

**Der Einfluss von Lutein und Zeaxanthin
auf die Altersabhängige Makuladegeneration**

Johannes-Samuel Büttner

Aus der Augenklinik und Poliklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. A. Kampik

Der Einfluss von Lutein und Zeaxanthin auf die Altersabhängige Makuladegeneration

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Johannes-Samuel Büttner
aus Zürich

2008

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. med. A. Kampik
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. L. Schaaf Prof. Dr. A. Mueller
Mitbetreuung durch die promovierte Mitarbeiterin:	Dr. med. B. von Livonius
Dekan:	Prof. Dr. med. D. Reinhardt
Tag der mündlichen Prüfung:	12.06.08

A. Inhaltsverzeichnis

A.	Inhaltsverzeichnis	5
B.	Abkürzungen	9
1.	Einleitung	10
2.	Theoretische Grundlagen	11
2.1.	Anatomie der Retina	11
2.2.	Definition der Altersabhängigen Makuladegeneration (AMD)	13
2.3.	Pathogenese der AMD	14
2.4.	Carotinoide und das Makulapigment	19
2.5.	Funktion der Carotinoide Lutein und Zeaxanthin im Auge	21
2.5.1.	Antioxidative Wirkung	21
2.5.2.	Lichtfilterfunktion	22
2.6.	Resorption und Transport von Carotinoiden im Körper	23
2.7.	Funktion weiterer Antioxidantien	24
2.7.1	Hydrophile Antioxidantien	24
2.7.2.	Lipophile Antioxidantien	24
3.	Fragestellung	25
4.	Material	26
4.1.	Geräte	26
4.2.	Chemikalien und Reagenzien	26

5.	Methoden	27
5.1.	Probandenkollektiv	27
5.2.	Aufteilung der Probanden in die Untersuchungsgruppen	27
5.3.	Allgemein- und Ernährungsanamnese	28
5.4.	Blutentnahmen	30
5.5.	HPLC-Bestimmungen	30
5.6.	Bestimmung der Blutfettwerte	33
5.7.	Makulapigmentdichten-Messung (Flickerphotometrie)	34
5.8.	Statistische Auswertung	36
6.	Ergebnisse	36
6.1.	Auswertung der Risikofaktoren	36
6.1.1.	Alter	36
6.1.2.	Rauchen	38
6.1.3.	Helle Irisfarbe	39
6.1.4.	Arterielle Hypertonie	40
6.1.5.	Body-Mass-Index	41
6.2.	Unterschiede im Ernährungsverhalten	41
6.3.	Vergleich des Serumgehalts der Antioxidantien im Blut	42
6.3.1.	Carotinoide	42
6.3.2.	Beta-Carotin	45
6.3.3.	Vitamin A (Retinol)	46
6.3.4.	Vitamin C (Ascorbinsäure)	47
6.3.5.	Vitamin E (Tocopherol)	48
6.3.6.	Glutathion-Ratio	49
6.4.	Vergleich der Makulapigmentdichte (MPOD)	49

6.5.	Vergleich der Blutfettwerte	50
6.6.	Korrelationen	52
6.6.1.	Allgemeiner Hinweis	52
6.6.2.	Korrelation zwischen Carotinoid-Index und Carotinoidserumspiegel	52
6.6.3.	Korrelation zwischen Carotinoidserumspiegel und MPOD	52
6.6.4.	Korrelation zwischen Carotinoid-Index und MPOD	52
6.6.5.	Korrelation zwischen Lebensalter und MPOD	53
6.6.6.	Korrelation zwischen Body-Mass-Index und MPOD	53
6.7.	Zusammenfassung der Ergebnisse	53
7.	Diskussion	55
7.1.	Risikofaktoren für die Entwicklung einer AMD	55
7.2.	Carotinoide und Ernährung	58
7.2.1.	Einfluß der Carotinoideaufnahme auf die AMD	58
7.2.2.	Resorption von Carotinoiden	59
7.2.3.	Zusammenhang zwischen Carotinoideaufnahme und –Serumspiegel	60
7.2.4.	Der Einfluss der Carotinoidserumkonzentrationen auf die AMD	61
7.2.5.	Auswirkungen des Body-Mass-Index und des Körperfettgehalts auf die AMD	62
7.2.6.	Geschlechtsunterschiede im Carotinoidserumgehalt	63
7.3.	Bedeutung der Vitamine und Antioxidantien in Zusammenhang mit der AMD	63
7.3.1.	Beta-Carotin-Serumspiegel	63
7.3.2.	Vitamin A, C, E –Serumspiegel	64
7.3.3.	Glutathion-Ratio	66
7.4.	Makulapigmentdichte	66
7.4.1.	Unterschiede in der Makulapigmentdichte	66
7.4.2.	Zusammenhang zwischen Carotinoid-Index und der Makulapigmentdichte	68

7.4.3.	Zusammenhang zwischen Carotinoidserumgehalt und der Makulapigmentdichte	68
7.4.4.	Einfluß des Lebensalters auf die Makulapigmentdichte	69
7.4.5.	Geschlechtsunterschiede in der Makulapigmentdichte	69
7.5.	Bedeutung der Blutfette bei AMD-Patienten	69
8.	Zusammenfassung	70
9.	Literaturverzeichnis	72
C.	Anhang (Ernährungsfragebogen, Lebenslauf)	78

B. Abkürzungen

A2-E	Lipofuscinteilkomponente
AMD	Altersabhängige Makuladegeneration
ARM	Age-related Maculopathy
AU	Area Units
BMI	Body-Mass-Index
CNV	Choroidale Neovaskularisation
GSH	Freies Glutathion
GSSG	Oxidiertes Glutathion
HDL	Lipoprotein hoher Dichte (high density lipoprotein)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
LDL	Lipoprotein geringer Dichte (low density lipoprotein)
MP	Makulapigment
MPOD	Macular Pigment Optical Density = Makulapigmentdichte
MW	Mittelwert
n	Anzahl der Probanden
NE	Nahrungsergänzungsmittel
RPE	Retinales Pigmentepithel
S	Standardabweichung

1. Einleitung

Die altersabhängige Makuladegeneration (AMD) ist eine Netzhauterkrankung, die bei Patienten jenseits des 50. Lebensjahres auftritt und zum Verlust der zentralen Sehschärfe führt. Durch eine ständig wachsende Lebenserwartung ist die AMD in den Industrienationen zur häufigsten Erblindungsursache im Alter geworden. (Bird, 1996; Holz and Pauleikhoff, 1997; McDonald et al., 2005) In einer europaweit angelegten Studie fand man bei mehr als der Hälfte der über 65 jährige Auffälligkeiten einer beginnenden AMD oder bereits fortgeschrittene Stadien. (European Eye Study, 2006)

Bei der Entstehung der Erkrankung scheinen sowohl exogene Risikofaktoren, wie Rauchen, UV-Lichtexposition, Ernährung, als auch endogene Faktoren, wie z.B. eine genetische Prädisposition, eine Rolle zu spielen. (Gandorfer et al., 2002)

In letzter Zeit wird immer häufiger diskutiert, dass Antioxidantien einen Schutz vor AMD bieten können. Speziell die beiden Carotinoide Lutein und Zeaxanthin, die das Makulapigment (MP) bilden, scheinen der Netzhaut einen natürlichen Schutz vor dem Sonnenlicht zu geben und gleichzeitig als Antioxidans die Netzhaut selbst vor Ort zu schützen. Es wird vermutet, dass weniger Makulapigment geringeren Schutz bieten kann und so die Entwicklung einer AMD begünstigt wird. (Davies and Morland, 2004; Landrum and Bone, 2001)

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es zu untersuchen, ob ein Zusammenhang zwischen Lutein und Zeaxanthin, sowie anderen Antioxidantien, wie Vitamin A/-C/-E, Beta-Carotin und Glutathion, und der AMD besteht. Dabei soll herausgefunden werden, ob Unterschiede im Ernährungsverhalten, im Blutserumgehalt oben genannter Antioxidantien und in der Makulapigmentdichte bei AMD-Patienten im Vergleich zu einer Kontrollgruppe vorliegen.

2. Theoretische Grundlagen

2.1. Anatomie der Retina

Die Retina ist die innerste Schicht, die den Augapfel auskleidet. Sie besteht aus einer komplexen Schichtung von Photorezeptoren und Nervengewebe. Eintreffende Lichtimpulse werden dort durch mehrstufige photochemische Reaktionen in Aktionspotentiale umgewandelt und anschließend über den Sehnerv an die Sehrinde weitergeleitet. (Lang, 2000)

Die inneren Anteile der Retina werden über die Zentralarterie des Auges versorgt. Die äußeren Anteile erhalten keine Blutgefäße. Sie werden per diffusionem durch die Bruchsche Membran und durch das retinale Pigmentepithel aus der darunter liegenden Gefäßhaut, der Uvea, ernährt. (Lang, 2000)

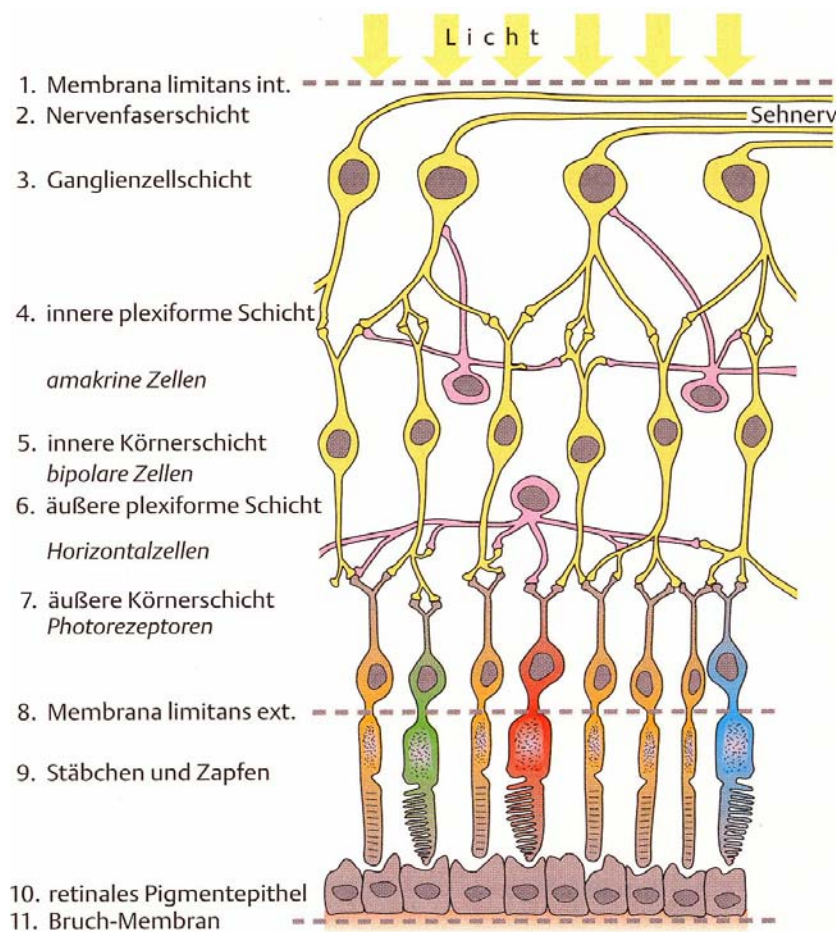


Abb. 1: Aufbau der Netzhaut (Lang, 2000)

Die Netzhaut verfügt über zwei Arten von lichtempfindlichen Rezeptoren: die Zapfen und die Stäbchen. Die Zapfen sind für ein exaktes Auflösungsvermögen und Farbsehen zuständig, die Stäbchen dagegen für das Dämmerungs- und Nachtsehen. (Gandorfer et al., 2002; Lang, 2000)

Im Zentrum der Retina, temporal der Papille, befindet sich ein ca. 5-6mm großer Bereich mit einer besonders hohen Dichte an Photorezeptoren, insbesondere von Zapfen. (Lang, 2000; Tezel et al., 2004; Yemelyanov et al., 2001) Dieser Bereich wird als Makula bezeichnet. In der Mitte der Makula liegt eine 1,5 mm große Netzhautgrube, die Fovea, die nur Zapfen enthält und als Ort des schärfsten Sehens dient. Die Mulde im Zentrum der Netzhautgrube wird als Foveola und das Zentrum der Mulde als Umbo bezeichnet. (Gandorfer et al., 2002)

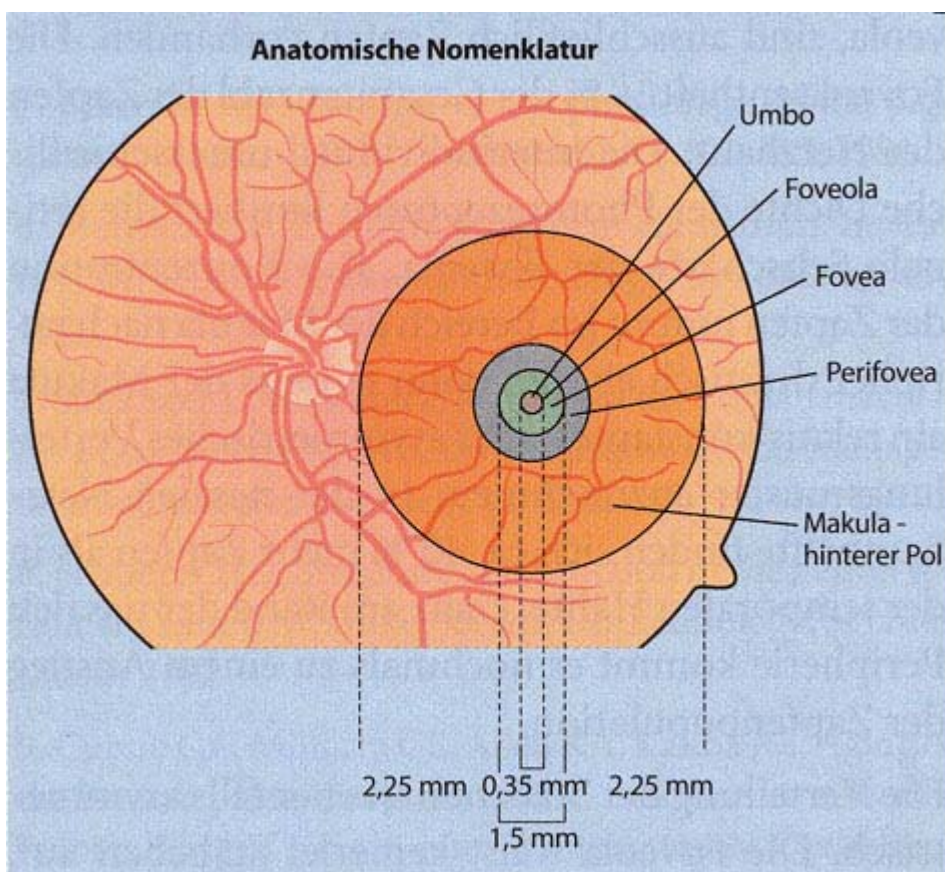


Abb.2: Schematische Darstellung der Netzhaut („Erkrankungen der Retina“ Gandorfer, Ulbig, Kampik, 2002)

Hierbei ist zu beachten, dass der Begriff Makula in der Klinik oft allein für den Bereich der Fovea verwendet wird und somit von der anatomischen Nomenklatur abweicht. Um Missverständnisse zu vermeiden, wird in der folgenden Arbeit der Begriff Makula im Sinne der anatomischen Nomenklatur verwendet.

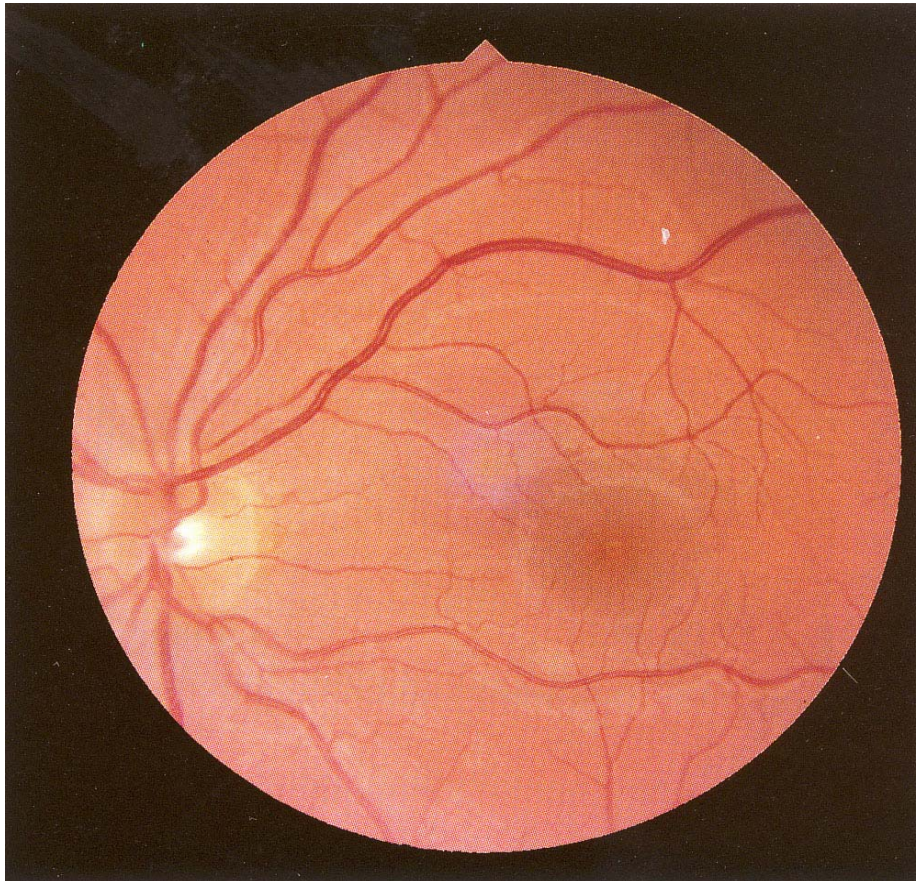


Abb. 3: Abbildung einer normalen Netzhaut (Kanski, 2004)

2.2. Definition der Altersabhängigen Makuladegeneration (AMD)

Die AMD ist eine fortschreitende Degeneration der Makula in höherem Lebensalter, durch Akkumulation von Stoffwechselprodukten im retinalen Pigmentepithel. (Lang, 2000) Man unterscheidet drei Stadien: die Frühform, die als „Age-related Maculopathy“(ARM) bezeichnet wird und die späteren Ausprägungen, die in trockene und feuchte AMD unterteilt werden. Die trockene AMD ist charakterisiert durch den flächigen Zelltod des retinalen

Pigmentepithels, während es bei der feuchten AMD zusätzlich zu Gefäßneubildungen aus der Aderhaut zwischen RPE und Netzhaut kommt, die zu Einblutungen führen kann. (Bird et al., 1995)

2.3. Pathogenese der AMD

Die wesentlichen pathophysiologischen Veränderungen der AMD finden sich im retinalen Pigmentepithel (RPE) und in der Bruchschens Membran der Netzhaut.(Gandorfer et al., 2002;Grehn, 2003) Im gesunden Auge phagozytieren die Zellen des retinalen Pigmentepithels die ständig anfallenden, verbrauchten Membranscheibchen der Photorezeptoraußensegmente. Sie werden innerhalb der RPE-Zellen durch lysosomale Prozesse zersetzt und anschließend über die Bruchsche Membran in die Gefäße der Aderhaut entsorgt. Man nimmt an, dass es durch den natürlichen Alterungsprozess zu einer fortschreitenden Störung dieses Abbauprozesses kommt. Dies wiederum führt in den RPE-Zellen zu einer Akkumulation von Stoffwechselprodukten, wie dem Lipofuscin, welches letztendlich zum Untergang der Zellen führt. (Holz et al., 1999;Schütt et al., 2000;Schütt and Holz, 2001) Da es sich bei dem RPE um postmitotisches Gewebe handelt, bleibt durch die fehlende Zellteilung eine Erneuerung des Gewebes aus und es kommt zu einem irreversiblen Zellverlust. (Holz and Pauleikhoff, 1997)

Die durch den Zelltod anfallenden Stoffwechselprodukte behindern sowohl räumlich als auch biochemisch die übrigen RPE-Zellen. So wurde z.B. bei einer Teilkomponente des Lipofuscin, dem A2-E, toxische Effekte nachgewiesen. (Gandorfer et al., 2002;Holz et al., 1999;Schütt et al., 2000;Zhou et al., 2006) Die nicht abtransportierten Stoffwechselprodukte sind als Einlagerungen, den sog. Drusen, in der Netzhaut sichtbar. Neben ihnen entwickeln sich zahlreiche diffuse Verdickungen, sowie Kalzifikationen auf der azellulären Bruchschens Membran.

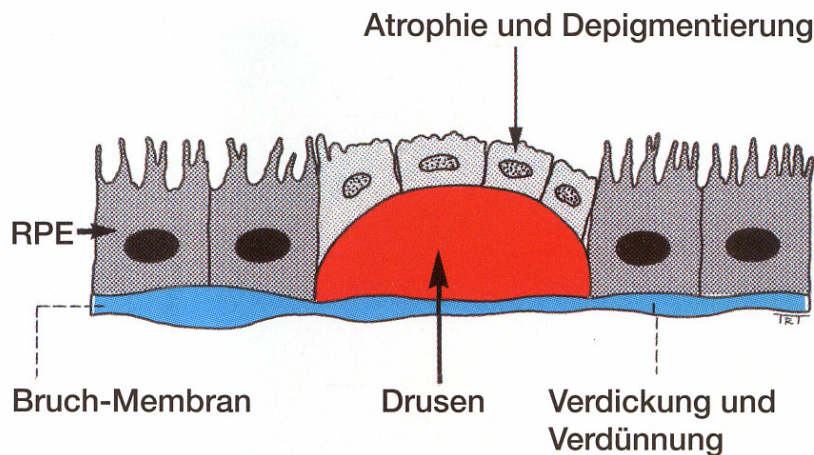


Abb. 4: Drusenbildung im Retinalen Pigmentepithel (Kanski, 2004)

Der notwendige Diffusionsaustausch zwischen dem RPE und der Aderhaut wird dadurch erschwert. (Bird, 1996; Gandorfer et al., 2002; Holz and Pauleikhoff, 1997; McDonald et al., 2005) Durch die entstandenen Schäden kommt es ebenfalls zu einer Aktivierung von Immunprozessen durch das Komplement-System, die zum weiteren Untergang von RPE-Zellen führen können. (Tezel et al., 2004) Hierbei werden auch bestimmte Variationen im Komplement-Faktor-H kodierendem Gen diskutiert, welches für eine Differenzierung zwischen körpereigenen und körperfremde Strukturen zuständig ist und somit eine überschießende Immunreaktion verhindert. (Donosco et al., 2006; Gehrs et al., 2006)

Je nach Verlauf werden drei Formen der AMD unterschieden. Eine frühe Form, die „Age-related Maculopathy“ (ARM), bei der Pigmentverschiebungen in der Makula zu sehen sind. (Bird et al., 1995) Die Funktion des Auges ist allerdings durch diese Veränderungen noch nicht beeinträchtigt.



Abb. 6: Abbildung einer ARM mit Pigmentverschiebung im Bereich der Makula (eigenes Patientenkollektiv)

Im weiteren Verlauf kommt es zu den Drusen und später zu einem progressiven Untergang des RPE. Dadurch entstehen große Areale atrophischer Netzhaut, die geografische chorioretinale Atrophien, genannt werden. Diese Formen werden als „trockene Makuladegeneration“ bezeichnet. (Gandorfer et al., 2002;Grehn, 2003;Schütt and Holz, 2001;Tezel et al., 2004)

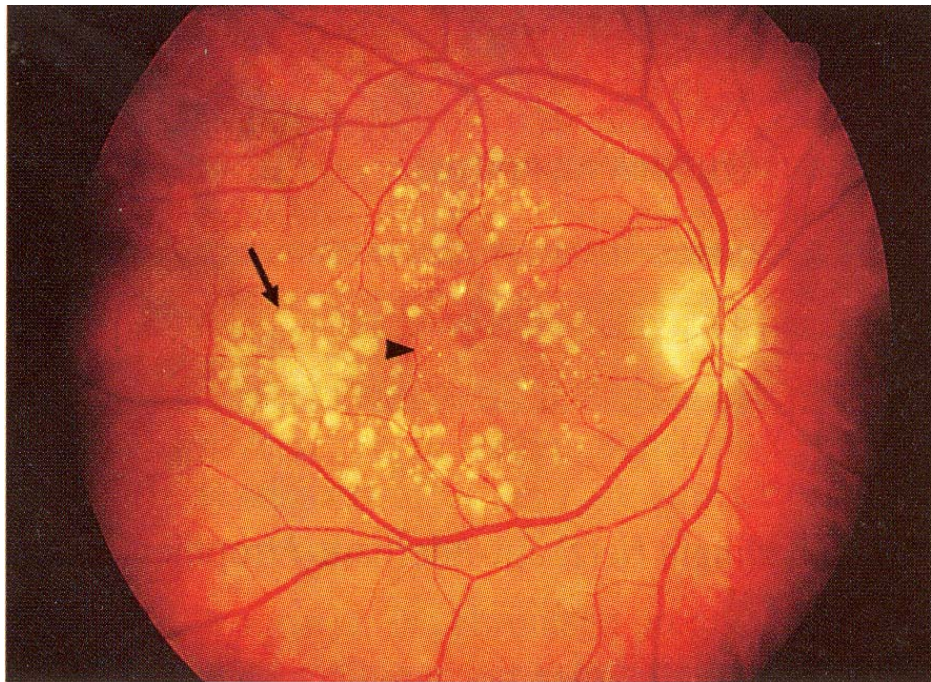


Abb. 6: Abbildung einer trockenen AMD, Drusen(Pfeil), geographische Atrophie (Pfeilspitze) (Lang, 2000)

Von einer „feuchten Makuladegeneration“ spricht man, wenn es zusätzlich zu einer choroidalen Gefäßneubildung kommt, die durch die Bruchsche Membran unter die Netzhaut wachsen. Durch undichte Gefäßwände kann es zu Flüssigkeitsansammlungen unter der Netzhaut oder zu subretinalen Blutungen kommen. Dabei können sich auch Pigmentepithel- und seröse Netzhautabhebungen entwickeln. (Bird et al., 1995;Gandorfer et al., 2002;Grehn, 2003;Tezel et al., 2004)

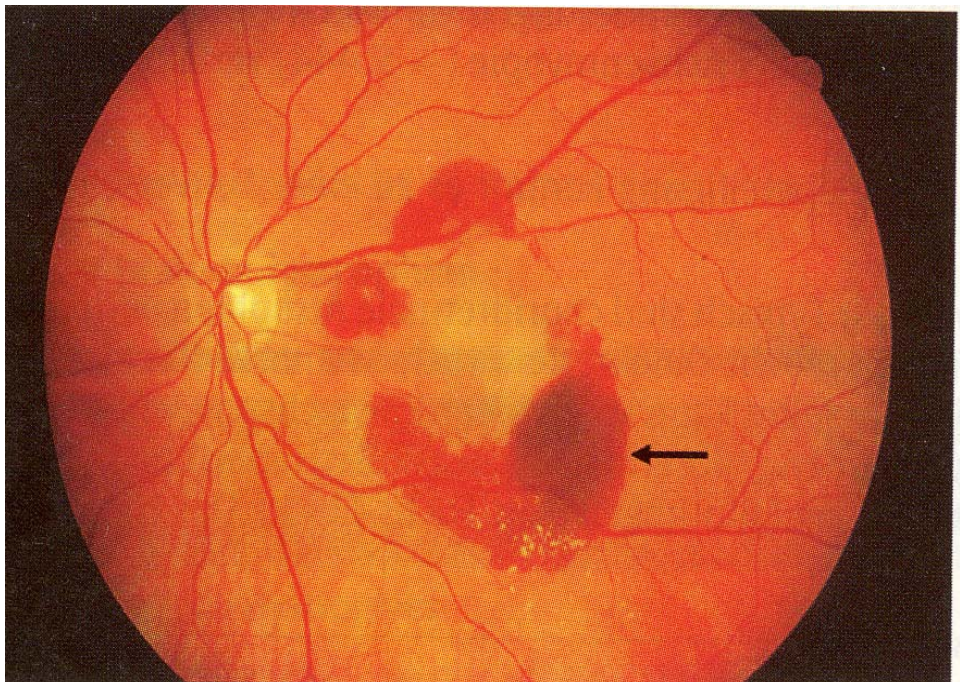


Abb. 7: Abbildung einer feuchten AMD mit subretinale Blutung (Pfeil) (Lang, 2000)

In Abhängigkeit von der Lokalisation und dem Ausmaß der Netzhautschäden kommt es so zu einem erheblichen Visusverlust bis hin zum vollständigen Verlust der zentralen Sehschärfe. Betroffene Patienten haben nur sehr eingeschränkte Therapieoptionen: Bei der trockenen AMD gibt es keine Möglichkeiten einer aktiven Therapie. Es bleibt nur eine Verbesserung der Lebensqualität mit vergrößernden Sehhilfen. Bei der feuchten AMD kann durch Laserbehandlung, intravitreale Anti-VEGF-Eingabe oder chirurgische Entfernung von choroidalen Neovaskularisationen die Progression der Erkrankung zeitweise verhindert

werden. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004; Gandorfer et al., 2002; Grehn, 2003; Lang, 2000) (Schmidt-Erfurth and Prunte, 2007)

2.4. Carotinoide und das Makulapigment

Carotinoide sind eine große Gruppe von Pflanzenfarbstoffen, die aus Kohlenwasserstoffketten bestehen und über ihre gemeinsamen C₄₀ H₅₆ Isoprenoid-Struktur zusammengefasst werden. (Yemelyanov et al., 2001) Die Xanthophylle bilden eine Untergruppe der Carotinoide und enthalten zusätzlich mindestens ein Sauerstoffatom. (Yemelyanov et al., 2001)

Bedeutende Vertreter dieser Untergruppe sind das Lutein und das Zeaxanthin, auf die wir uns in dieser Arbeit konzentriert. Mit der Bezeichnung Carotinoide sind im Folgenden, falls nicht anders ersichtlich, nur die beiden Vertreter Lutein und Zeaxanthin gemeint.

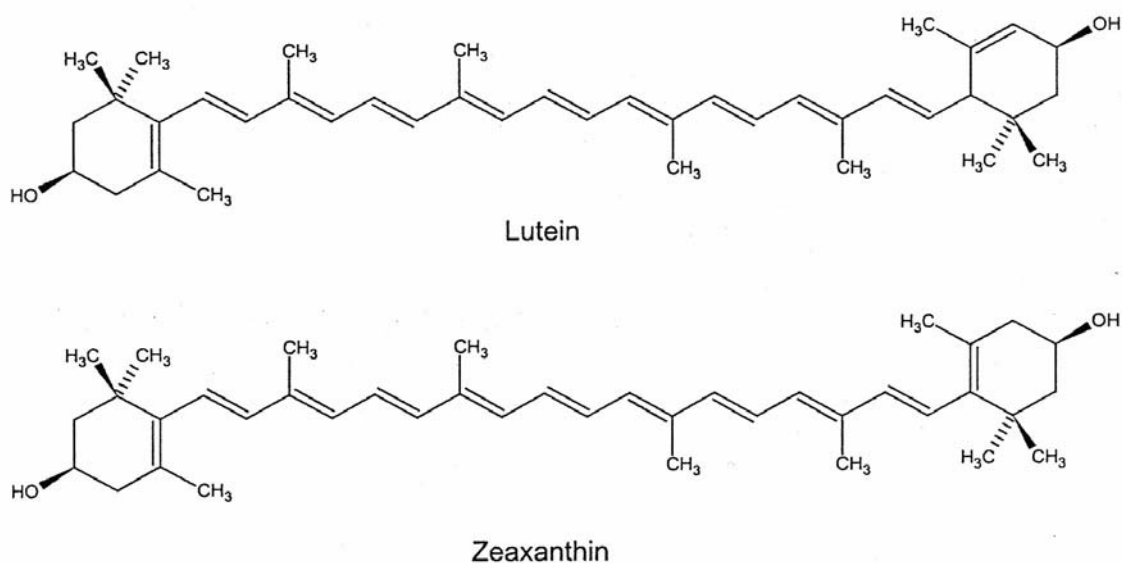


Abb. 8: Molekularstruktur von Lutein und Zeaxanthin (Davies and Morland, 2004)

Die gelbliche Farbe erhält die Makula durch das Makulapigment (MP). Dieses MP ist zum größten Teil aus den drei Carotinoid-Isomeren Lutein (ca.36%), Zeaxanthin (ca.18%) und Meso-Zeaxanthin (ca.18%) zusammengesetzt. (Landrum and Bone, 2001; Moeller et al., 2000)

Ungefähr die Hälfte des außergewöhnlich hohen Gesamtcarotinoidgehalts der Retina befindet sich im Bereich der Makula, einem nur ca. 5-6 mm Durchmesser großem Areal der Netzhaut. (Yemelyanov et al., 2001) Die Konzentrationen der Carotinoide sind dort mehr als tausendfach höher als die Blutserumkonzentrationen. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004) Während das Zeaxanthin zum größten Teil im Bereich der Fovea vorliegt, ist das Lutein mehr in der Peripherie der Retina enthalten. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004; Sommerburg et al., 1999) Die Carotinoide sind überwiegend in den Phospholipidmembranen der Photorezeptoraußensegmenten gebunden. (Landrum and Bone, 2001; Sommerburg et al., 1999; Sujak et al., 1999) Auf Grund ihrer polaren Sauerstoffgruppe können sich Lutein und Zeaxanthin einfach in die Zellmembran eingliedern, was auch erklärt, dass andere nicht-polare Carotinoide wie das Beta-Caroten oder Lycopren in der Makula kaum vorhanden sind. (Bernstein et al., 2001; Landrum and Bone, 2001; Moeller et al., 2000; Yemelyanov et al., 2001)

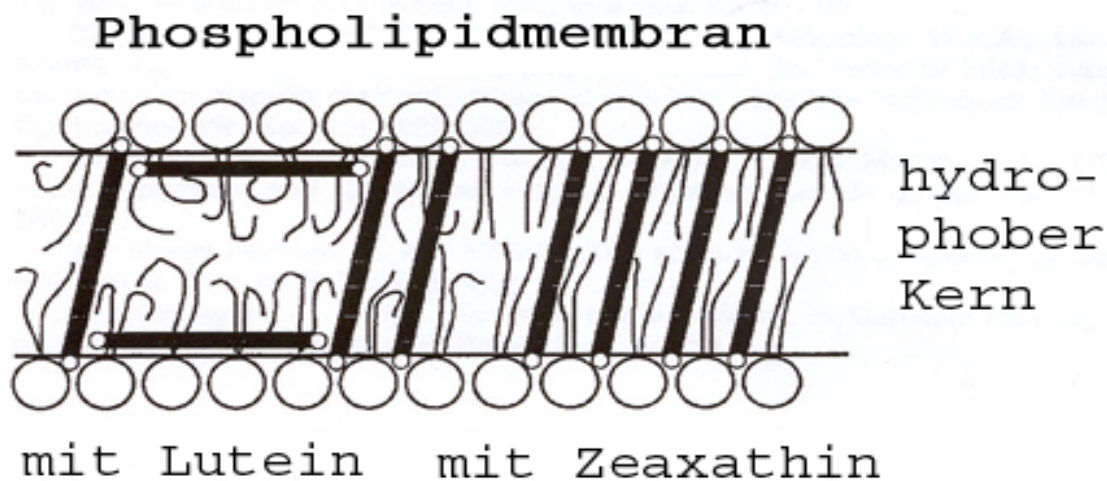


Abb. 9: Unterschiedliche Lage der Carotinoide in Phospholipidmembranen (Krinsky, 2002)

In neueren Studien wurden Membranproteine beschrieben, welche einen Einfluss auf die Aufnahme der Carotinoide aus dem Blut, deren Metabolismus und Stabilisierung haben sollen. (Bernstein et al., 2001;Bhosale et al., 2004a;Yemelyanov et al., 2001) Lutein und Zeaxanthin sind im Auge auch in der Linse, in der Iris und dem Ziliarkörper vorhanden. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004;Bernstein et al., 2001;Moeller et al., 2000) Außerhalb des Auges werden die Carotinoide im Fettgewebe des Körpers gespeichert. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004;Broekmans et al., 2002;Johnson et al., 2000)

2.5. Die Funktion der Carotinoide Lutein und Zeaxanthin im Auge

Aufgrund der hohen Konzentrationen von ungesättigten Fettsäuren in der Retina ist sie besonders anfällig für oxidative Schäden, und ist so auf besonders effektive Schutzmechanismen angewiesen. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004) Die besonders lichtexponierten Photorezeptoren in der Makula werden durch zwei unterschiedliche Mechanismen der Carotinoide vor den oxidativen Schäden des UV-Licht geschützt.

2.5.1. Antioxidative Wirkung

Kenntnisse über die antioxidative Wirkung von Lutein und Zeaxanthin, wurden u.a. aus Beobachtungen der Pflanzenwelt gewonnen. In Pflanzen ist eine zentrale Aufgabe der Carotinoide, die Zellen vor photooxidativen Schäden zu schützen. (Demming-Adams and Adams, 2000;Li et al., 2000) So wird in grünblattrigen Pflanzen durch exzessive Sonnenenergie angeregtes Chlorophyll, das nicht für die Photosynthese verwendet werden kann, unter anderem durch Zeaxanthin in thermische Energie dissipiert. In mutierten, Zeaxanthin-defizienten Pflanzen fehlt dieser Schutzmechanismus, wodurch die Blätter der Pflanzen trotz vorhandener anderer Carotinoide für Photooxidation anfälliger werden und zu welken beginnen. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004;Demming-Adams and Adams, 2000) Ein ähnlicher Mechanismus ist auch an der Netzhaut wirksam. Durch UV-Licht induzierte

Radikale reagieren frühzeitig mit Carotinoiden, so wird eine unkontrollierte, aggressive Kettenreaktion der Radikale gegen andere organische Strukturen verhindert. (Davies and Morland, 2004; Landrum and Bone, 2001; Moeller et al., 2000; Sommerburg et al., 1999; Sujak et al., 1999; Yemelyanov et al., 2001) Auf diese Weise schützen Carotinoide auch vor Lipid-Peroxidation, einer oxidativen Schädigung von Lipoproteinen, deren Produkte wiederum Zellfunktionen stören. (Sevanian and Ursini, 2000)

2.5.2. Lichtfilterfunktion

Desweiteren fungieren Lutein und Zeaxanthin auch als Lichtfilter und absorbieren bestimmte Wellenlängen des Sonnenlichtes. Der Absorptionsbereich der beiden Carotinoide ist besonders gegenüber dem aggressiven Blaulicht wirksam, welches im Vergleich zum orangem Licht bis zu hundertmal weniger Energie braucht um Zellschäden zu verursachen. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004) Das Absorptionsmaximum von Lutein liegt bei 445 nm und von Zeaxanthin bei 451 nm. (Landrum and Bone, 2001; Sommerburg et al., 1999; Sujak et al., 1999)

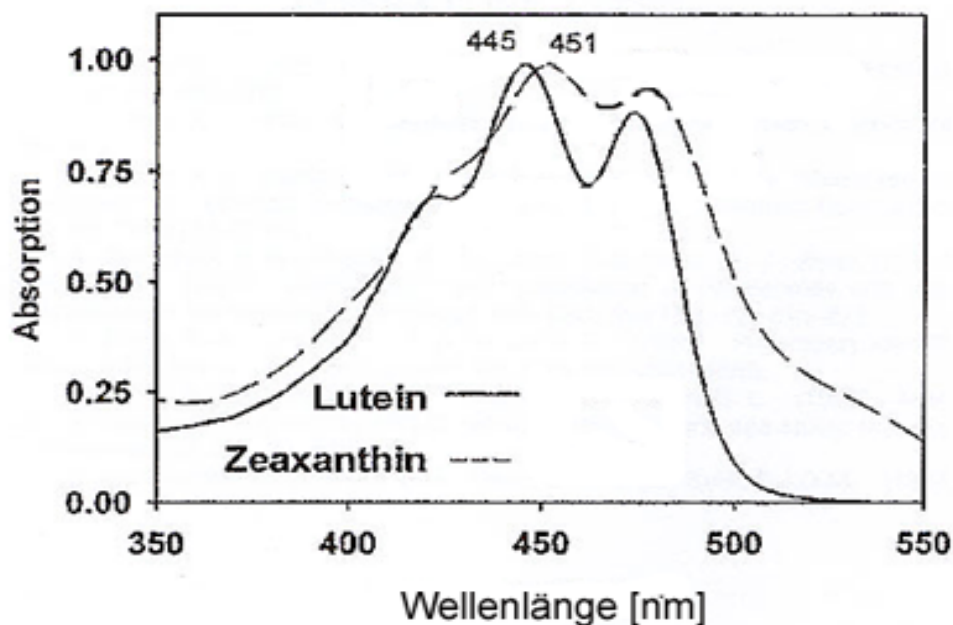


Abb. 10: Absorptionsspektrum von Lutein und Zeaxanthin (Krinsky, 2002)

2.6. Resorption und Transport von Carotinoiden im Körper

Die Synthese von Carotinoiden ist im menschlichen Körper nicht möglich, daher müssen sie über die Nahrung aufgenommen werden. (Yemelyanov et al., 2001) Besonders hohe Carotinoid-Konzentrationen sind im grünen Gemüse, wie z.B. Spinat, Broccoli oder Grünkohl enthalten. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004;Castenmiller et al., 1999;van het Hof et al., 2000)

Über den komplexen Vorgang der Carotinoid-Resorption gibt es derzeit nur wenige Erkenntnisse. Gesichert ist jedoch, dass die lipophilen Carotinoide zunächst im Magen aus den Zellstrukturen der aufgenommenen Nahrung herausgelöst werden müssen, damit sie in kleinen Fetttropfchen gelöst werden können. (van het Hof et al., 2000) Diese werden dann in Form von Micellen in die Enterozyten des Darms aufgenommen und in sog. Chylomikronen, das sind transportfähige Lipoproteide, umgewandelt. (van het Hof et al., 2000) Bisher wurde kein aktiver Carrier oder Transporter für Carotinoide beschrieben. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004) Von den Enterozyten gelangen die „verpackten“ Carotinoide über die Lymphbahnen in das Blutsystem, wo sie letztendlich in HDL und LDL, Metaboliten der Chylomikronen, gebunden werden. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004;van het Hof et al., 2000;Yemelyanov et al., 2001)

Der exakte Mechanismus, wie die Carotinoide von dort ins Auge gelangen, ist ebenfalls noch weitgehend ungeklärt. Allerdings konnte in Versuchen nachgewiesen werden, dass das RPE im Vergleich zu anderen Zellmembranen, die ebenfalls Carotinoide aufnehmen, effizienter in der Aufnahme von Lutein und Zeaxanthin ist. (Shafaa et al., 2007) Zudem wird auch die Rolle eines spezifischen carotinoid-bindenden Proteins diskutiert, welches eine Pi-Isoform der Glutathion-S-Transferase ist. (Bhosale et al., 2004b) Am Zielort angekommen, werden die Carotinoide überwiegend in den Phospholipidmembranen der Photorezeptoraußensegmenten gebunden. (Landrum and Bone, 2001;Sommerburg et al., 1999;Sujak et al., 1999)

2.7. Funktion weiterer Antioxidantien

Neben den Carotinoiden entfalten möglicherweise auch andere Substanzen wie Vitamin C und E, Glutathion und Beta-Carotin eine antioxidative Wirkung in der Netzhaut und im RPE. (Karlson et al., 1994;The Age-Related Eye Disease Study Group, 1999;Winkler et al., 1999) Diese Wirkung kann an unterschiedlichen Stellen eines Oxidationsprozesses zum Einsatz kommen, z.B. direkt nach der Entstehung eines Radikals oder später in der Beseitigung eines bereits beschädigten Moleküles. (Winkler et al., 1999) Dabei unterscheidet man zwischen hydrophilen und lipophilen Antioxidantien.

2.7.1. Hydrophile Antioxidantien

Zu den wichtigsten *hydrophilen* Antioxidantien zählen Vitamin C und Glutathion (GSH). Beide besitzen ein starkes Reduktionspotential und sind an einer Vielfalt von Reaktionen beteiligt. (Karlson et al., 1994;Winkler et al., 1999) Vitamin C hat z.B. die Fähigkeit Vitamin E-Radikale wieder zu Vitamin E zu regenerieren. Das Verhältnis von freiem GSH zu oxidiertem Glutathion (GSSG) wird in vielen Laboren als Indikator für oxidativen Stress in der Zelle verwendet. (Chromsystems, 2003)

2.7.2 Lipophile Antioxidantien

Zu den *lipophilen* Antioxidantien gehören außer den Carotinoiden die Vitamine E und A. Sie können freie Radikale, Lipid-Hydroperoxide und andere toxische Substanzen metabolisieren. (Karlson et al., 1994;The Age-Related Eye Disease Study Group, 1999;Winkler et al., 1999) Vitamin E verhindert überwiegend die spontane Peroxidation stark ungesättigter Fettsäuren in den Membranlipiden. (Karlson et al., 1994) Vitamin A ist wichtig bei der Bildung von Rhodopsin, welches am Sehvorgang beteiligt ist. (Karlson et al., 1994) Desweiteren ist Vitamin A ein Spaltprodukt von Beta-Carotin, welches neben Lutein und Zeaxanthin ebenfalls ein bedeutender Vertreter der Carotinoid-Gruppe ist und ausgeprägte antioxidative

Eigenschaften besitzt. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004; Karlson et al., 1994; The Age-Related Eye Disease Study Group, 1999)

3. Fragestellung

Ziel dieser Arbeit ist es, zu untersuchen, ob die Carotinoide Lutein und Zeaxanthin und andere Antioxidantien (Vitamin A, C, E, Beta-Carotin, Glutathion) eine Rolle bei der Entstehung der AMD spielen. Hierfür wurde eine Gruppe von AMD-Patienten mit einer Kontroll-Gruppe bezüglich der für die Entstehung der AMD bekannten Risikofaktoren, ihres Ernährungsverhaltens, der Blutserumwerte der oben genannten Antioxidantien, sowie des Makulapigmentgehaltes verglichen.

Um festzustellen, ob sich die beiden Gruppen hinsichtlich ihrer nutritiven Versorgung mit Carotinoiden unterscheiden, wurde bei den Teilnehmern mit Hilfe eines Ernährungsfragebogens festgehalten, wieviel carotinoidhaltige Obst- und Gemüsesorten, aber auch Nahrungsergänzungsmittel monatlich eingenommen werden.

Da neben den Carotinoiden auch andere Substanzen am Auge antioxidativ wirksam sind, wurden zur Überprüfung des Antioxidationsstatus mittels der HPLC-Methode bei beiden Gruppen nicht nur der Blutserumgehalt von Lutein und Zeaxanthin, sondern zusätzlich auch von Beta-Carotin, Glutathion, Vitamin A, C und E, sowie der Blutfettwerte gemessen.

Die Makulapigmentdichte wurde mit Hilfe der Flickerphotometrie bestimmt.

In den bisher zu diesem Thema durchgeführten Studien wurden jeweils nur Teilaspekte der obengenannten Punkte untersucht. So wurde nur die Carotinoidaufnahme im Bezug auf die Serumspiegel (Rock et al., 2002; Tyssandier et al., 2002; Yeum et al., 1996) oder die Serumspiegel im Bezug auf die Makulapigmentdichte untersucht. (Broekmans et al., 2002; Johnson et al., 2000)

Diese Arbeit soll durch eine systematische Vorgehensweise an einem großen Patientenkollektiv einen Gesamtüberblick über die wichtigsten Schritte des Carotinoidmetabolismus von der Carotinoid-Aufnahme, den Carotinoid-Serumspiegeln bis zur Carotinoid-Aufnahme in die Makula gewinnen. Dadurch wird vermieden, dass Einzel-Ergebnisse aus einer monokausalen Perspektive betrachtet werden. Während multifaktorielle Einflüsse auf die AMD besser erfasst werden.

4. Material

4.1. Geräte:

- | | |
|--|-------------------------------|
| • Photometer: Uvikon 922 | Kontron Instruments, Neufahrn |
| • Fluoreszenz Detektor Typ Shimadzu RF-535 | Labequip, Canada |
| • UV/VIS Detektor Typ Waters 2487 | Medchrom, Eppelheim |
| • Heterochromatischer Flicker Photometer Prototyp | Eyemet, UK |
| • Pharmacia LKB HPLC-Pump 2248 | Sci-bay, NY, USA |
| • PN 1021 Solvent Delivery System | Postnova, Europa |
| • PN 5111 Injektor Valve Bracket | Postnova, Europa |
| • Elektrochemischer Detektor
Chromsystems CLC 100 | Chromsystems, München |
| • EDTA-Röhrchen (Monovette®) | Sarstedt, Nümbrecht |
| • Serum-Gel-Röhrchen (Monovette®) | Sarstedt, Nümbrecht |
| • Lithium-Heparin-Röhrchen (Monovette®) | Sarstedt, Nümbrecht |

4.2. Chemikalien und Reagenzien:

- | | |
|--------------------------------------|--------------------------|
| • Carotinoid Kit | Chromsystems, München |
| • Vitamin E/A Kit | Chromsystems, München |
| • Vitamin C Kit | Chromsystems, München |
| • Glutathion Kit | Chromsystems, München |
| • Gesamt-Cholesterin Reagenz | Rolf Greiner, Biochemica |
| • LDL-Analyse Kit | Rolf Greiner, Biochemica |
| • HDL-Analyse Kit | Rolf Greiner, Biochemica |
| • Triglycerid Reagenzgebrauchslösung | Rolf Greiner, Biochemica |
| • HPLC-Mobile Phase | Chromsystems, München |

5. Methoden

5.1. Probandenkollektiv

Für das AMD-Patientenkollektiv sowie für die Kontrollgruppe wurden folgende Ein- bzw. Ausschlusskriterien festgelegt.

Einschlusskriterien:

- Alter \geq 50. Lebensjahr
- Visus (des gemessenen Auges) $>$ 0,1

Ausschlusskriterien:

- Diabetes mellitus
- Retinitis centralis serosa
- Myopia magna (mehr als -8,0 dpt)
- Erbliche Netzhauterkrankungen

	Kontroll-Gruppe	AMD-Gruppe	Gesamt-Teilnehmer
Teilnehmerzahl	60	59	119
Weiblich	32	33	65
Männlich	28	26	54
Durchschnittsalter	66,7 J.	74,8 J.	70,7 J.

Es wurden in dieser Studie insgesamt 119 Teilnehmer rekrutiert, welche sich auf 60 Kontrollprobanden und 59 AMD-Patienten aufteilen. Von den Kontroll-Patienten waren 32 Teilnehmer weiblich und 28 Teilnehmer männlich, bei den AMD-Patienten waren 33 Teilnehmer weiblich und 26 Teilnehmer männlich. Der Altersunterschied zwischen beiden Gruppen beträgt 8,1 Jahre.

5.2. Aufteilung der Probanden in die Untersuchungsgruppen

Die Ergebnisse der Augenuntersuchungen aller Probanden wurden schriftlich dokumentiert. Der jeweilige Netzhautbefund wurde fotografisch festgehalten. Die Teilnehmer wurden gemäß der Angaben der „International ARM Epidemiological Study Group“ zur

Klassifikation und Grading für ARM und AMD den verschiedenen Krankheitsstadien zugeordnet und dann der AMD- oder Kontroll-Gruppe zugeteilt.

5.3. Allgemein- und Ernährungsanamnese

Zu Beginn der Untersuchungen wurde bei jedem Probanden eine Allgemein-Anamnese erhoben, in der unter anderem Größe, Gewicht, Erkrankungen, sowie Risikofaktoren der AMD und Medikamenteneinnahme abgefragt wurden.

Die Ernährungsanamnese wurde mittels eines Fragebogen erhoben, der in Anlehnung des Ernährungsfragebogens der ARED-Studie (Age-Related Eye Disease Study) entwickelt wurde. (The Age-Related Eye Disease Study Group, 1999) Eine Ausführung des Fragebogens ist im Anhang enthalten. Es wurden Essgewohnheiten, Zubereitungsarten und Mengen im Bezug auf carotinoidhaltige Nahrungsmittel abgefragt. Aus der Häufigkeit der Aufnahme und des bekannten Carotinidgehalts aller abgefragten Gemüse- und Obstsorten, sowie des Carotinidgehalts der aktuell eingenommen Nahrungsergänzungsmittel, ließ sich in etwa die monatliche Carotinoideinnahme des Probanden errechnen. Der daraus resultierende Wert wird als Carotinoid-Index bezeichnet.

Obst und Gemüse	Lutein und Zeaxanthin (mg/100g)
Grünkohl	15,8
Kohlrabi	8,44
Kohl	8,09
Spinat	7,04
Kopfsalat	2,64
Broccoli	2,23
Mais	1,8
Grüne Erbsen	1,35
Rosenkohl	1,29
Grüne Bohnen	0,7
Khaki	0,49
Karotten	0,36

Tabelle 1: Lutein- und Zeaxanthingehalt von ausgewählten Obst- und Gemüsesorten

Da die meisten AMD-Patienten im Vergleich zu der Kontroll-Gruppe bereits eine Vielzahl an unterschiedlichen carotinoid- und vitaminhaltigen Nahrungsergänzungsmitteln einnehmen, wurde bei jedem Probanden sorgfältig dokumentiert welche und wieviel Carotinoid- und Vitaminpräparate eingenommen wurden. Um festzustellen, ob Unterschiede zwischen beiden Gruppen in den Serumwerten auch ohne Supplementierung vorliegen, wurden die Probanden in zwei Gruppen aufgeteilt. Somit konnten die jeweiligen Serumwerte mit und ohne Supplementierung verglichen werden. Aus diesem Grund unterscheiden sich im Ergebnis die Anzahl der Probanden bei den einzelnen Serumwerten.

5.4. Blutentnahmen

Die Blutentnahmen wurden gemäß der im klinischen Alltag üblichen venösen Blutentnahme durchgeführt. Zur Bestimmung der genannten Blutserumspiegel wurden folgende Blutröhrchen/Monovetten® der Firma Sarstedt verwendet:

- EDTA-Röhrchen Vitamin E
 Vitamin A
 Beta-Carotin
 Lutein
 Zeaxanthin
 Glutathion

- Serum-Gel-Röhrchen HDL
 LDL
 Triglyceride
 Harnsäure

- Lithium-Heparin-Röhrchen Vitamin C (lichtgeschützt)

Mit Ausnahme des Glutathion (hier wurde das Vollblut direkt eingefroren) wurden alle Proben im Anschluss an die Blutentnahme bei 3000 U/min für 10 min zentrifugiert und die Überstände abpipettiert. Die Überstände der Serum-Gel-Röhrchen wurde bei 4 °C, alle anderen Proben bei -20 °C aufbewahrt.

5.5. HPLC-Bestimmungen

Carotinoide

Um den Serumgehalt von Lutein, Zeaxanthin und Beta-Carotin quantifizieren zu können, wurde eine Bestimmung mittels HPLC-Auftrennung (High Performance Liquid Chromatography) durchgeführt. Entsprechend der Arbeitsvorschrift der Firma Chromsystems wurden die Carotinoide zunächst aus dem Blutserum extrahiert. Hierfür wurden zu 100 µl Serum schrittweise 50 µl Interner Standard, 50 µl Precipitation Reagent und 200 µl Extraction Buffer zugeben. Nach jeder Zugabe wurde kurz gevortext (= geschüttelt), anschließend wurde

die Probe 10 min bei 13.000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde dann in ein lichtgeschütztes Gefäß überführt, und davon 50 µl in das HPLC-System injiziert. Mittels HPLC wurden die Carotinoide aufgetrennt und von einem UV/VIS-Detektor (Waters 2487) mit einer Messwellenlänge von 453 nm bei einer Durchflussrate von 1,5 – 1,8 ml/min detektiert. Durch Integration der korrespondierenden Peak-Fläche wurde dann der Carotinoidgehalt zunächst in einer dimensionslosen Flächeneinheit (AU= Area Units) quantifiziert. Unter Berücksichtigung des internen Standards, konnte so die Konzentration der Carotinoide Lutein und Zeaxanthin ermittelt werden. Auf Grund des ähnlichen Absorptionsspektrums von Lutein und Zeaxanthin ist es mit dieser Methode nicht möglich diese chromatographisch von einander zu trennen. Somit können die Werte dieser beiden Carotinoide nur als ein Wert angegeben werden.

Vitamin A und Vitamin E

Zur Quantifizierung von Vitamin A und E wurden die Proben wie folgt vorbereitet: 200 µl des Patienten-Serum, 20 µl Interner Standard und 25 µl Precipitation Reagent I wurden für 30 sec gemischt. Anschließend wurden 400 µl Precipitation Reagent II zugegeben und erneut 30 sec lang gevortext. Dann wurden die Proben bei 9.000 U/min für 10 min zentrifugiert. 50 µl des Überstandes wurden in das HPLC-System injiziert und mit der gleichen Art und Weise wie Zeaxanthin und Lutein bei einer Meßwellenlänge von 295 nm gemessen.

Vitamin C

Zur Bestimmung des Vitamin C Gehaltes wurden zuerst 100 µl rekonstituiertes Precipitation Reagent in lichtgeschützte Reaktionsgefäße vorgelegt, dann 100 µl Serum zugegeben und anschließend 10 sec gevortext. Nach einer 10-minütigen Inkubation bei 4 °C, wurden die Proben bei 13 000 U/min zentrifugiert und aus dem Überstand 20 µl in das HPLC-System

injiziert. Die Bestimmung wurde ebenfalls mit der bereits vorher genannten Messmethode, bei einer Messwellenlänge von 245 nm durchgeführt.

Gluthation

Für die Bestimmung der Gluthation-Ratio wurde als erster Schritt in lichtgeschützten Reaktionsgefäßen 150 µl Interner Standard vorgelegt, 10 µl der Vollblutprobe zugegeben und durch Nachspülen der Pipettenspitze kurz gemischt. Danach wurden die Proben 2 sec gevortext, 400 µl Precipitations Reagent zugegeben und erneut für 30 sec gevortext.

Anschließend wurden die Proben bei 9000 U/min 7 min lang zentrifugiert.

Im nächsten Schritt wurden, zur Messung des „freien“ Gluthations, 50 µl des Überstandes in ein frisches, lichtgeschütztes Reaktionsgefäß überführt, 100 µl Derivatisierungslösung zugegeben und gut gemischt, 10 min in einem Wasserbad (50-55 °C) inkubiert und danach sofort wieder abgekühlt. Im Anschluß wurden davon 20 µl in das HPLC-System injiziert und gemessen.

Zur Bestimmung des „Gesamt“-Gluthation-Gehalts wurden zu 50 µl der Proben, nachdem sie in lichtgeschützte Reaktionsgefäße gegeben wurden, 10 µl Reduction Reagent beigefügt und kurz gevortext. Danach wurden die Proben 5 min bei Raumtemperatur inkubiert.

Anschließend wurde 100 µl Derivatisierungslösung hinzugefügt und erneut gut gemischt.

Nach 10 min Inkubation im Wasserbad (50-55 °C) und anschließendem Abkühlen, wurden 20 µl der Proben in das HPLC-System eingespritzt. Die Messwellenlänge lag bei EX 385 nm und EM 515 nm, die Durchflussrate betrug 1,3 ml/min.

Die Gluthation-Ratio errechnet sich dann aus dem Quotienten der doppelten „freien“ Gluthationmenge durch die Differenz der „Gesamt“- und der „freien“ Gluthationmenge.

5.6. Bestimmung der Blutfettwerte

Aus organisatorischen Gründen bei der Patientenrekrutierung konnten für die Bestimmung der Blutfettwerte die empfohlene 12 Std. Nahrungskarenz vor der Blutentnahme nicht eingehalten werden. Die Analyse der Blutfettwerte erfolgte mit einem Photometer des Typs UVIKON 922 der Firma Kontron Instruments und wurde gemäß der Arbeitsvorschrift mit den Reagenzien der Firma Rolf Greiner Biochemica durchgeführt.

Analyse des Gesamt-Cholesterin-Gehaltes

Für die Bestimmung wurde des Gesamt-Cholesterin-Gehaltes wurden 10 µl der Blutserumprobe mit 1000 µl Cholesterin-Reagenz gemischt und nach 10 min Inkubation bei Raumtemperatur mit dem Photometer bei einer Wellenlänge von 546 nm gemessen.

Analyse des High Density Lipoproteins (HDL)

Für die HDL-Bestimmung wurde zunächst 80 ml Fällungsreagenz mit 20 ml Aqua dest. verdünnt. Zu 200 µl Blutserum wurden 500 µl dieses Fällungsreagenz hinzugegeben, gut gemischt und anschließend für 10 min bei Raumtemperatur inkubiert. Nachdem die Probe 10 min bei 4000 U/min zentrifugiert wurde, wurden 100 µl des Überstandes entnommen, mit 1000 µl Cholesterin-Reagenz vermischt und im Photometer bei 546 nm gemessen.

Analyse des Low Density Lipoprteins (LDL)

Für die Bestimmung des LDL-Gehaltes wurden 100 µl Blutserum mit 1000 µl Fällungsreagenz gemischt, 10 min bei Raumtemperatur inkubiert und danach 10 min bei 4000 U/min zentrifugiert. Vom Überstand wurden dann 100 µl entnommen und mit 1000 µl Cholesterin-Reagenz gemischt, nach 10 min Inkubation bei Raumtemperatur wurde die Probe im Photometer bei 546 nm gemessen.

Analyse der Triglyceride

Der Triglyceridgehalt wurde bestimmt indem 10 μl des Blutserums mit 1000 μl Reagenzgebrauchslösung vermischt und anschließend 10 min bei Raumtemperatur inkubiert wurden. Die Messung erfolgte im Photometer bei einer Wellenlänge von 546 nm.

5.7. Makulapigmentdichten-Messung (Flickerphotometrie)

Die Makulapigmentdichte wurde mit Hilfe eines heterochromatischen Flicker-Photometers, einem Prototyp der Firma Eyemet, bestimmt.

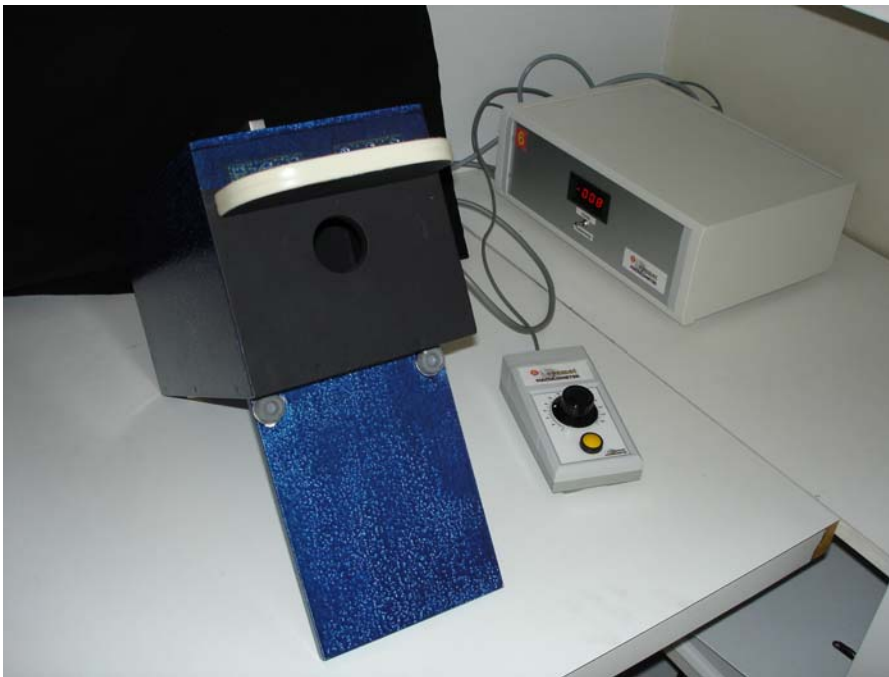


Abb. 11: Flickerphotometer, Prototyp der Firma Eyemet

Das Prinzip dieser nicht-invasiven, psychophysischen Messmethode beruht auf der Eigenschaft des Makulapigments blaues Licht zu absorbieren. Auf einem kleinen Bildschirm im Abstand von 30 cm flackert abwechselnd grünes und blaues Licht mit einer Frequenz von 13 Hz (parafoveale Messung) bzw. 18 Hz (foveale Messung) auf. Bei der fovealen Messung konzentriert sich der Proband auf den flackernden Punkt im Zentrum des Bildschirms. Bei der

parafovealen Messung dagegen wird zwar der gleiche Punkt im Zentrum anvisiert, in dieser Einstellung wird der Proband jedoch aufgefordert die nun flackernden Klammern links und rechts des Punktes zu beurteilen.

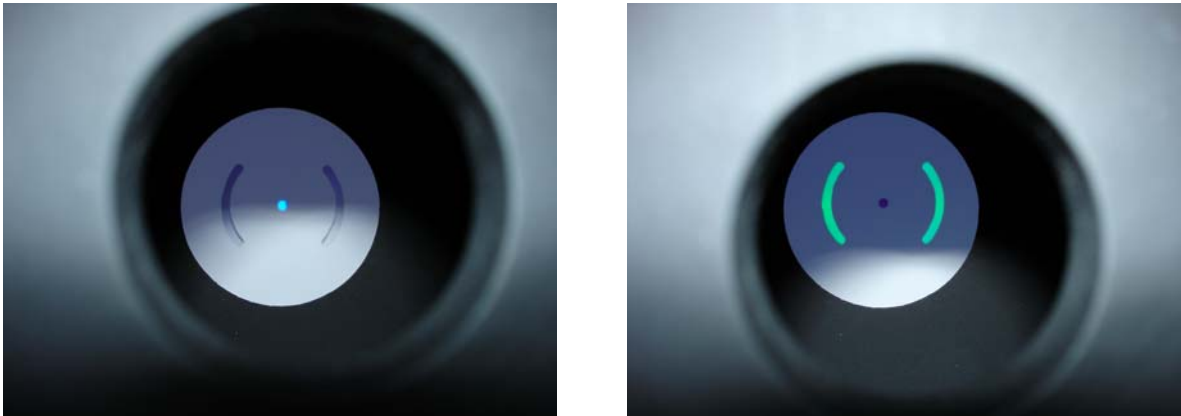


Abb. 12: Blick ins Flickerphotometer bei fovealer (links) und parafovealer Messung (rechts)

Das blaue Licht wird vom Makulapigment absorbiert und demnach von den einzelnen Probanden in Abhängigkeit von der Menge des Makulapigments als unterschiedlich stark empfunden. Das grüne Licht wird nicht vom Makulapigment absorbiert und leuchtet auf dem Bildschirm stets mit der gleichen Intensität auf. Die Lichtintensität des blauen Lichts kann jedoch vom Probanden nach dem subjektiven Empfinden angepasst werden. Die Intensität des blauen Lichts wird vom Probanden mit einer Stellschraube so eingestellt, bis er subjektiv das Gefühl hat, dass das Licht kaum mehr flackert, also beide Lichter für den Probanden die gleiche Lichtintensität haben. Anhand der Differenz der konstanten „grünen“ und der eingestellten „blauen“ Lichtstärke können Rückschlüsse auf den Makulapigmentgehalt gezogen werden.

Die Messungen werden sowohl foveal als auch parafoveal (5 Grad links und rechts der Fovea) mindestens fünfmal wiederholt, um somit einen Mittelwert errechnen zu können. Der Quotient aus beiden Mittelwerten ergibt ein Maß für die optische Dichte des Makulapigments,

kurz MPOD genannt (Macular Pigment Optical Density). Es handelt sich bei dem Wert der MPOD nicht um eine direkte quantitative Messung, sondern um einen relativen Wert.

5.8. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit der SPSS 13.0 Software. Alle Tabellen, Grafiken und Häufigkeitsverteilungen wurden mit Hilfe dieses Programms oder Microsoft Excel erstellt bzw. errechnet. Für den Vergleich der Variablen beider Gruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test für zwei unabhängige Stichproben angewendet. Die Abhängigkeit der Variablen wurde mit einer bivariaten Korrelation nach Spearman geprüft. Auf Grund der Altersdifferenz zwischen den zu vergleichenden Gruppen wurde zudem noch eine binär logistische Regression der Variablen errechnet, um einen möglichen Alterseinfluss auf die Variablen zu berücksichtigen.

Für die binär logistische Regression gilt, dass eine Erhöhung der Variable um eine Einheit das Erkrankungsrisiko, unter Berücksichtigung des Alters, um die Odds Ratio (OR) erhöht bzw. erniedrigt. Die Auswertung erfolgte unter Anleitung des Statistischen Instituts IBE im Klinikum Großhadern, München.

6. Ergebnisse

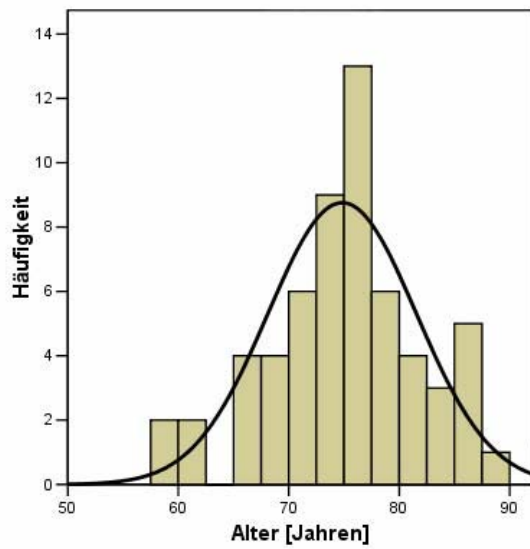
6.1. Auswertung der Risikofaktoren

6.1.1. Alter

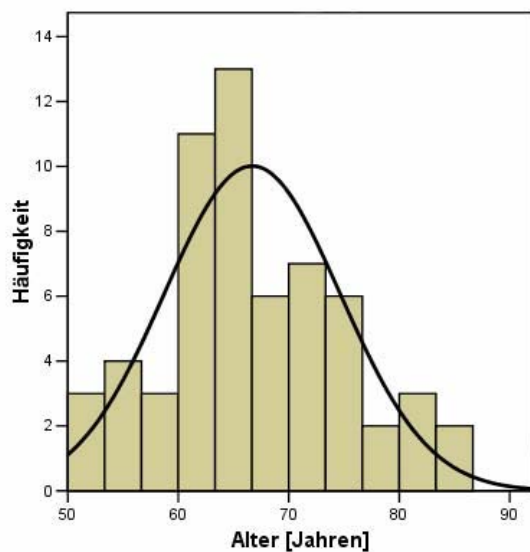
Vergleicht man das Durchschnittsalter der Studienteilnehmer, so zeigt sich, dass das durchschnittliche Alter der AMD-Gruppe bei 74,8 ($\pm 6,7$) Jahre und das der Kontroll-Gruppe bei 66,7 ($\pm 8,0$) Jahre liegt. Der Altersunterschied zwischen beiden Gruppen beträgt 8,1 Jahre und ist mit $p < 0,001$ höchst signifikant.

Alter [Jahren]

Patiententyp	Anzahl [n]	Mittelwert
AMD	59	74,8 ($\pm 6,7$)
Kontrolle	60	66,7 ($\pm 8,0$)
Gesamt	119	70,7 ($\pm 8,4$)



Grafik 4: Altersverteilung in der AMD-Gruppe



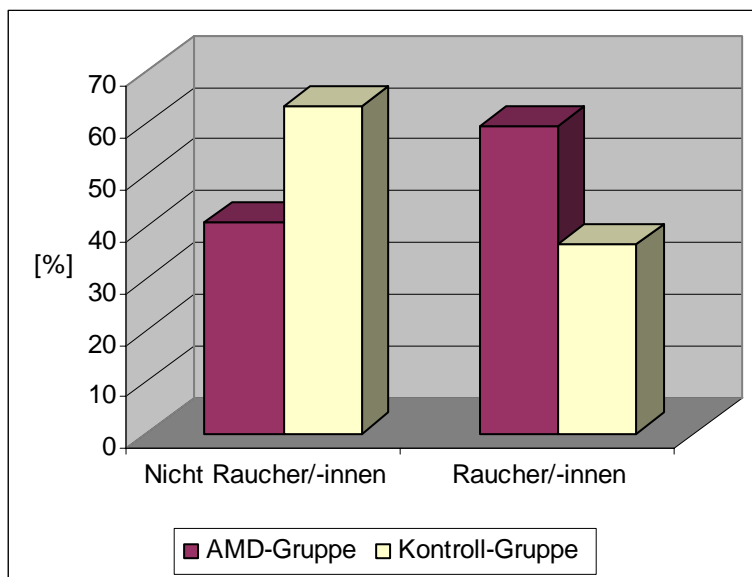
Grafik 5: Altersverteilung in der Kontroll-Gruppe

6.1.2. Rauchen

In der AMD-Gruppe betrug die Anzahl der aktiven Raucher/-innen und derjenigen, die in der Vergangenheit geraucht haben, 59,3%. In der Kontroll-Gruppe ist der Anteil der Raucher/-innen, sowie Ex-Raucher, mit 36,7% deutlich niedriger. Beim Vergleich der AMD-Gruppe mit der Kontroll-Gruppe wird deutlich, dass die Anzahl der Raucher und Ex-Raucher in der AMD-Gruppe signifikant höher ist ($p = 0,014$).

Anteil der Raucher/-innen [Prozent]

	AMD-Gruppe		Kontroll-Gruppe	
	Anzahl [n]	Prozent [%]	Anzahl [n]	Prozent [%]
Nicht-Raucher/-innen	24	40,7	38	63,3
Raucher/-innen	35	59,3	22	36,7
Gesamt	59	100	60	100



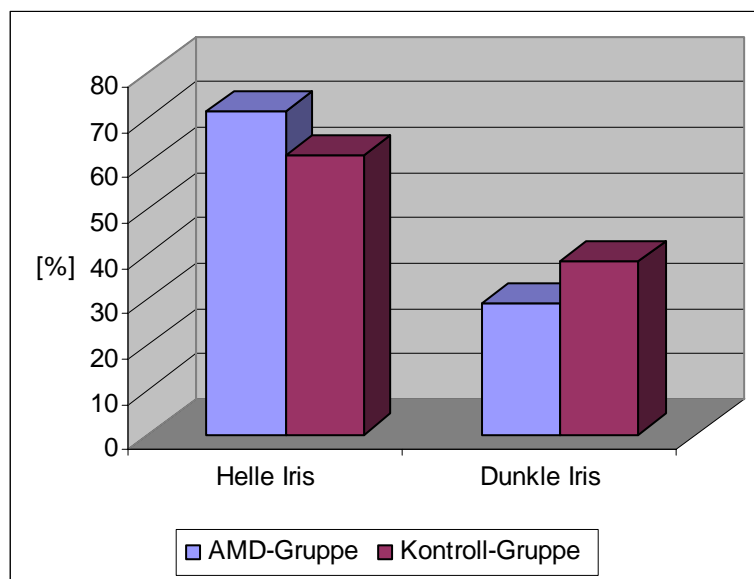
Grafik 1: Prozentangaben der Raucher und Nicht-Raucher beider Gruppen

6.1.3. Helle Irisfarbe

In der AMD-Gruppe hatten 71,2% der Teilnehmer eine helle Irisfarbe, während in der Kontroll-Gruppe 60% der Teilnehmer eine helle Irisfarbe aufwiesen. Die Häufigkeit einer hellen Irisfarbe ist in beiden Gruppen nicht signifikant unterschiedlich ($p = 0,245$).

Anteil der Probanden mit heller Irisfarbe [Prozent]

Irisfarbe	AMD-Gruppe		Kontroll-Gruppe	
	Anzahl [n]	Prozent [%]	Anzahl [n]	Prozent [%]
Helle Iris	42	71,2	37	61,7
Dunkle Iris	17	28,8	23	38,3
Gesamt	59	100	60	100



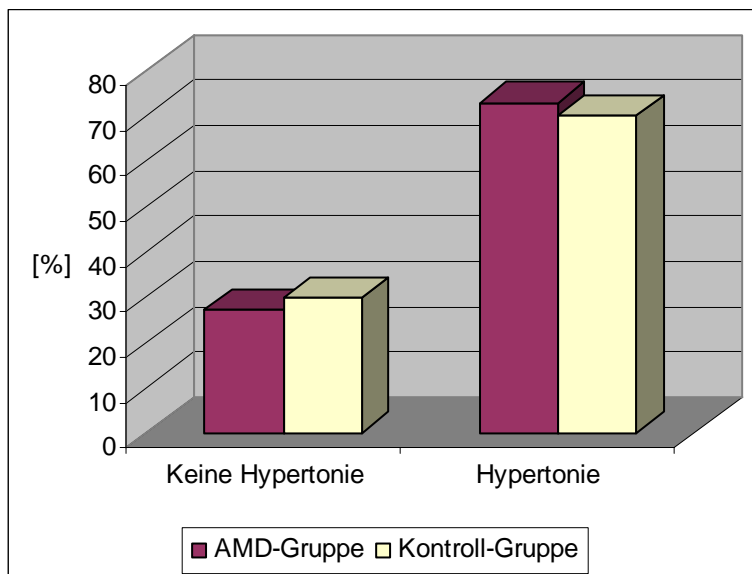
Grafik 2: Anteil der Probanden mit heller und dunkler Irisfarbe

6.1.4. Arterielle Hypertonie

Die anamnestischen Angaben der Probanden ergaben, dass in der AMD-Gruppe 72,9% an einer arteriellen Hypertonie erkrankt waren. In der Kontroll-Gruppe waren es 70,0%. Die Eigenangaben der Teilnehmer zeigten keinen Unterschied bezüglich einer Bluthochdruckerkrankung in den beiden Gruppen (nach Altersadjustierung) $p = 0,465$.

Anteil der Probanden mit arterieller Hypertonie [Prozent]

	AMD-Gruppe		Kontroll-Gruppe	
	Anzahl [n]	Prozent [%]	Anzahl [n]	Prozent [%]
Keine Hypertonie	16	27,1	18	30
Hypertonie	43	72,9	42	70
Gesamt	59	100	60	100



Grafik 3: Anteil der Studienteilnehmer mit arterieller Hypertonie

6.1.5. Body-Mass-Index

Der Body-Mass-Index (BMI) [kg/m²] beider Gruppen wurde verglichen. Der durchschnittliche BMI war in beiden Gruppen annähernd gleich: AMD-Gruppe 26,1 (±5,3) kg/m², Kontroll-Gruppe 26,7 (±4,3) kg/m². Der Unterschied ist nicht signifikant: nach Altersadjustierung p = 0,965 mit einer OR von 1,002. Der obere Grenzwert des BMI für Normalgewichtige liegt bei > 64 Jahren bei 29 kg/m². (DGB, Ernährungsbericht 1992)

Body Mass Index [kg/m²]

AMD-Gruppe		Kontroll-Gruppe	
Anzahl [n]	BMI[kg/m ²]	Anzahl [n]	BMI[kg/m ²]
59	26,1 (±5,3)	60	26,7 (±4,3)

6.2. Unterschiede im Ernährungsverhalten

Bei der Auswertung der Ernährungsanamnese wurde bei jedem Teilnehmer anhand seiner Angaben berechnet wie hoch in etwa seine monatliche Carotinoidzufuhr mit bzw. ohne Nahrungsergänzungsmittel ist. Der daraus resultierende Wert wurde als Carotinoid-Index bezeichnet. Der Mittelwert der berechneten Carotinoid-Indices beträgt in der AMD-Gruppe 111,2 (±59,2) mg/Monat und in der Kontrollgruppe 138,8 (±87,9) mg/Monat. Die Signifikanz zwischen der AMD- und der Kontroll-Gruppe beträgt nach Altersadjustierung p = 0,038 und eine OR von 0,993. Dies besagt, dass die Einnahme von einem Milligramm Carotinoiden mehr pro Monat bereits das Risiko an einer AMD zu erkranken um den Faktor 0,993 verringert. Also bei einem durchschnittlich 27,6 mg höheren Carotinoid-Index hat die Kontroll-Gruppe ein um den Faktor 0,824 niedrigeres Risiko (0,993 hoch 27,6) an einer AMD zu erkranken.

Carotinoid-Index [mg/Monat]

Patiententyp	Anzahl [n]	Mittelwert
AMD	59	111,2 (\pm 59,2)
Kontrolle	60	138,8 (\pm 87,9)
Gesamt	119	125,1 (\pm 76,0)

Ebenfalls besteht ein signifikanter Unterschied in der Häufigkeit der Ernährung mit Tiefkühlkostprodukten. In der AMD-Gruppe gaben die Patienten deutlich häufiger an tiefgefrorene Nahrung zu sich zu nehmen als die Kontroll-Gruppe. Eine Altersadjustierung zeigt einen signifikanten Unterschied $p = 0,034$ und eine OR von 1,376. Die OR besagt in diesem Fall, dass das Risiko an einer AMD zu erkranken um den Faktor 1,376 steigt, wenn im Ernährungsfragebogen bezüglich der Tiefkühlkost eine Häufigkeitsstufe mehr angegeben wurde.

6.3. Vergleich des Serumgehalts der Antioxidantien im Blut

6.3.1. Carotinoide

Beim Vergleich der Carotinoidserumspiegel beider Gruppen, zeigt sich zunächst ein niedrigerer Mittelwert in der AMD-Gruppe $227,7 (\pm 168,2) \mu\text{g/l}$ als in der Kontroll-Gruppe $278,8 (\pm 151,0) \mu\text{g/l}$. Der Unterschied nach Altersadjustierung ist jedoch nicht signifikant, $p = 0,095$ bei einer OR von 0,998.

Betrachtet man allerdings die Carotinoidserumspiegel der Teilnehmer, die keine carotinoidhaltigen Nahrungsergänzungsmittel (NE) zu sich nehmen, so beträgt der Mittelwert in der AMD-Gruppe $213,9 (\pm 111,1) \mu\text{g/l}$ und in der Kontroll-Gruppe $277,6 (\pm 150,0) \mu\text{g/l}$. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen bleibt auch nach Alteradjustierung nahezu signifikant, $p = 0,056$ und eine OR von 0,995. Die OR sagt aus, dass wenn der Carotinoidserumspiegel um ein $\mu\text{g/l}$ höher ist sich die Wahrscheinlichkeit an einer AMD zu

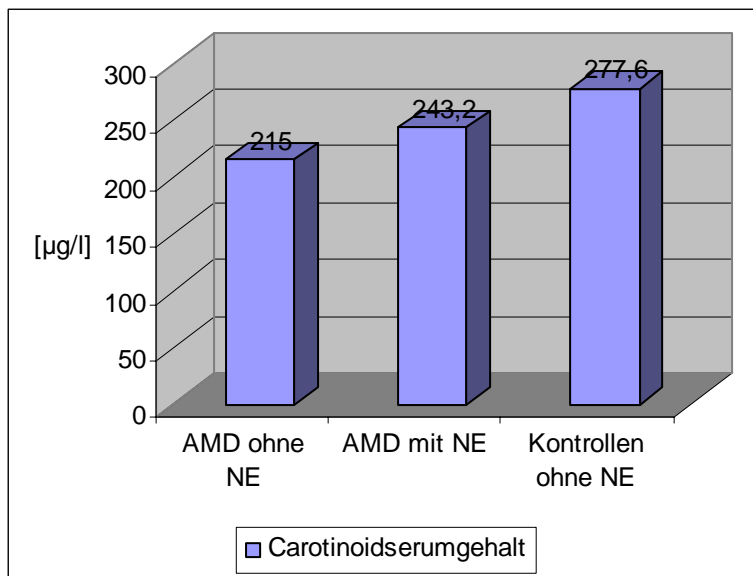
erkranken um den Faktor 0,995 erniedrigt. Bei einem Unterschied von 63,7 µg/l ergibt sich für die Kontroll-Gruppe ein um den Faktor 0,727 geringeres Erkrankungsrisiko.

Betrachtet man die Serumspiegel der Kontroll-Gruppe, die keine NE zu sich nehmen, 277,6 (±150,0) µg/l mit denen der AMD-Gruppe, die NE zu sich nehmen, 243,2 (±223,0) µg/l und denen der AMD-Gruppe, die keine zu sich nehmen 213,9 (±111,1) µg/l, so ist zu erkennen, dass die niedrigsten Carotinodserum-Spiegel in der nicht-supplementierten AMD-Gruppe und die höchsten in der Kontroll-Gruppe ohne NE sind. Der Unterschied zwischen der AMD-Gruppe, mit NE, und der Kontrollen, ohne NE, ist nicht signifikant und beträgt nach Altersadjustierung $p = 0,403$ und OR 0,999. Der Carotinoidspiegel der Kontroll-Gruppe mit NE ist mit 300,5 µg/l am höchsten, wurde aber wegen der geringen Anzahl von $n = 3$ nicht in den Vergleich einbezogen.

Die Daten von 3 Probanden konnte aufgrund fehlerhafter Messungen nicht verwendet werden und wurden daher ebenfalls ausgeschlossen. Somit können in diesem Fall nur 55 Kontrollen und 58 AMD-Patienten verglichen werden.

Carotinoidserumgehalt beider Gruppen [µg/l]

Carotinoidserumgehalt [µg/l]	AMD-Gruppe		Kontroll-Gruppe	
	Anzahl [n]	Mittelwert	Anzahl [n]	Mittelwert
Ohne Nahrungsergänzungsmittel	32	215,0 (±111,1)	55	277,6 (±150,0)
Mit Nahrungsergänzungsmittel	26	243,2 (±223,0)	3	300,5 (±202,0)
Gesamt	58	227,7 (±168,2)	58	278,8 (±151,0)



Grafik 6: Carotinoidserumgehalt beider Gruppen mit/ohne Nahrungsergänzungsmittel (NE)

Getrennt betrachtet, ist der Mittelwert des Carotinoidserumgehalts der männlichen Studienteilnehmer 261,1 (\pm 144,3) $\mu\text{g/l}$ im Vergleich zu den weiblichen Studienteilnehmer 246,8 (\pm 174,6) $\mu\text{g/l}$ leicht erhöht. Es liegt aber kein geschlechtsspezifisch signifikanter Unterschied vor $p = 0,297$.

Betrachtet man nur die Studienteilnehmer, die keine NE zu sich nehmen, so ist der Mittelwert im Carotinoidserumgehalt bei den Männern 268,8 (\pm 152,3) $\mu\text{g/l}$ weiterhin etwas höher als der Mittelwert bei den Frauen 241,1 (\pm 127,1) $\mu\text{g/l}$. Der Unterschied ist ebenfalls nicht signifikant $p = 0,355$.

Geschlechtsunterschiede im Carotinoidserumgehalt [$\mu\text{g/l}$]

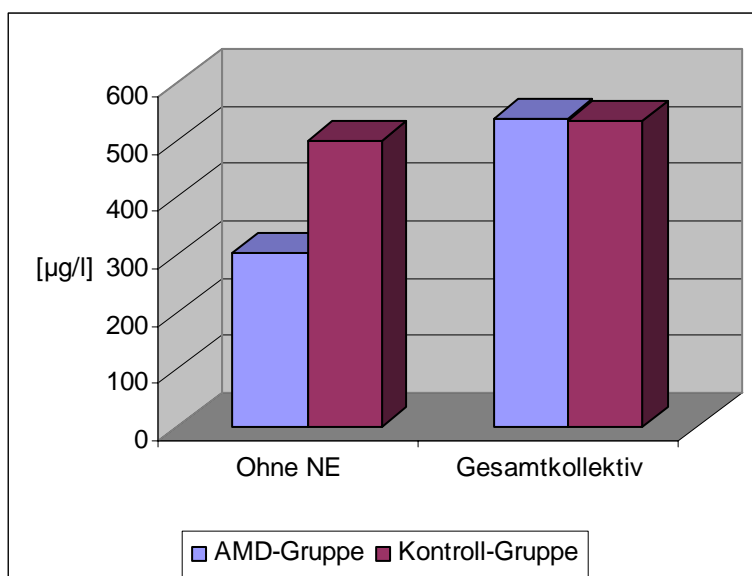
Carotinoidserumgehalt[$\mu\text{g/l}$]	Frauen		Männer	
	Anzahl [n]	Mittelwert	Anzahl [n]	Mittelwert
Probanden ohne Nahrungsergänzungsmittel	42	241,1 (\pm 127,1)	43	268,8 (\pm 152,3)
Probanden mit und ohne Nahrungsergänzungsmittel	64	246,8 (\pm 174,6)	52	261,1 (\pm 144,3)

6.3.2. Beta-Carotin

Der Mittelwert des Serumgehalts von Beta-Carotin beträgt in der AMD-Gruppe 537,6 ($\pm 445,2$) $\mu\text{g/l}$ und in der Kontroll-Gruppen 533,4 ($\pm 464,5$) $\mu\text{g/l}$ und ist damit in beiden Gruppen annähernd gleich hoch. Der geringe Unterschied bleibt auch nach Altersadjustierung nicht signifikant $p = 0,387$ und OR 1,000. Nimmt man jedoch die Teilnehmer, die keine NE nehmen aus dem Kollektiv, so beträgt der Mittelwert der AMD-Gruppe von 304 ($\pm 227,7$) $\mu\text{g/l}$ und der Kontroll-Gruppe 498,2 ($\pm 401,8$) $\mu\text{g/l}$. Auch nach Altersadjustierung ergab sich kein signifikanter Unterschied $p = 0,094$ und die OR 0,998. Die Daten von 3 Probanden konnte aufgrund fehlerhafter Messungen nicht verwendet werden und wurden daher ebenfalls ausgeschlossen. Somit können in diesem Fall nur 58 Kontrollen und 58 AMD-Patienten verglichen werden.

Serumgehalt des Beta-Carotin in beiden Gruppen [$\mu\text{g/l}$]

Serumgehalt des Beta-Carotin [$\mu\text{g/l}$]	AMD-Gruppe		Kontroll-Gruppe	
	Anzahl [n]	Mittelwert	Anzahl [n]	Mittelwert
Probanden ohne Nahrungsergänzungsmittel	29	304,3 ($\pm 227,7$)	51	498,2 ($\pm 401,8$)
Probanden mit und ohne Nahrungsergänzungsmittel	58	537,6 ($\pm 445,2$)	58	533,4 ($\pm 464,5$)



Grafik 7: Serumgehalt Beta-Carotin

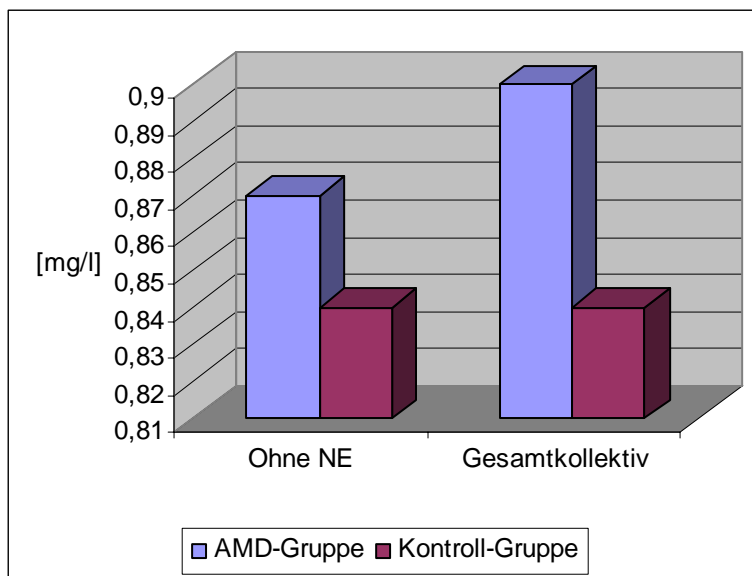
6.3.3. Vitamin A (Retinol)

Die Blutserumspiegel von Vitamin A zeigten beim Vergleich der AMD-Gruppe 0,90 ($\pm 0,24$) mg/l mit der Kontroll-Gruppe 0,84 ($\pm 0,26$) mg/l nach Altersadjustierung einen nicht signifikanten Unterschied $p = 0,185$ und OR 1,668.

Es zeigte sich ebenfalls kaum ein Unterschied zwischen der AMD-Gruppe 0,87 ($\pm 0,24$) mg/l und der Kontroll-Gruppe 0,84 ($\pm 0,26$) mg/l, wenn man nur die Teilnehmer ohne NE betrachtet. Nach Alteradjustierung war keine Signifikanz $p = 0,818$ und OR 1,211 erkennbar.

Vitamin A Serumgehalt des Gesamtkollektivs [mg/l]

Serumgehalt des Vitamin A [mg/l]	AMD-Gruppe		Kontroll-Gruppe	
	Anzahl [n]	Mittelwert	Anzahl [n]	Mittelwert
Probanden ohne Nahrungsergänzungsmittel	30	0,87 ($\pm 0,24$)	54	0,84 ($\pm 0,26$)
Gesamtkollektiv	59	0,90 ($\pm 0,24$)	60	0,84 ($\pm 0,26$)



Grafik 8: Serumgehalt Vitamin A

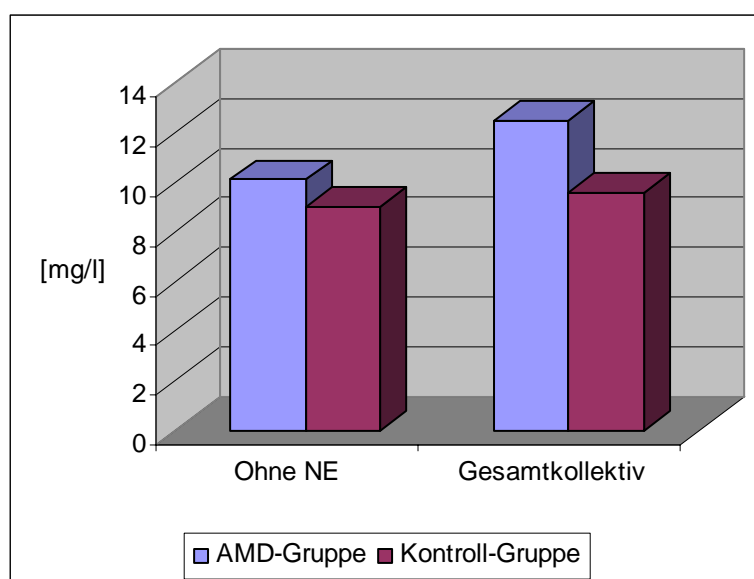
6.3.4. Vitamin C (Ascorbinsäure)

Der Serumgehalt von Vitamin C ist in der AMD-Gruppe 12,5 (\pm 5,6) mg/l signifikant höher als in der Kontroll-Gruppe 9,6 (\pm 4,6) mg/l signifikant höher, die Altersadjustierung ergab $p = 0,005$ und OR 1,163. Dies besagt, dass eine Erhöhung des Vitamin C-Serumgehalt um 1 mg/l das AMD-Erkrankungsrisiko um den Faktor 1,163 erhöht.

Die Teilnehmer, die keine NE zu sich nehmen, haben im Schnitt einen niedrigeren Vitamin C-Serumgehalt. In der AMD-Gruppe 10,1 (\pm 4,0) mg/l) und in der Kontroll-Gruppe von 9,0 (\pm 4,6) mg/l. Der Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen ist nach Altersadjustierung zwar nicht signifikant, lässt jedoch eine starke Tendenz vermuten: $p = 0,065$ und OR 1,150.

Vitamin C Serumgehalt des Gesamtkollektivs [mg/l]

Serumgehalt des Vitamin C [mg/l]	AMD-Gruppe		Kontroll-Gruppe	
	Anzahl [n]	Mittelwert	Anzahl [n]	Mittelwert
Probanden ohne Nahrungsergänzungsmittel	28	10,1 (\pm 4,0)	49	9,0 (\pm 4,6)
Gesamtkollektiv	59	12,5 (\pm 5,6)	60	9,6 (\pm 4,6)



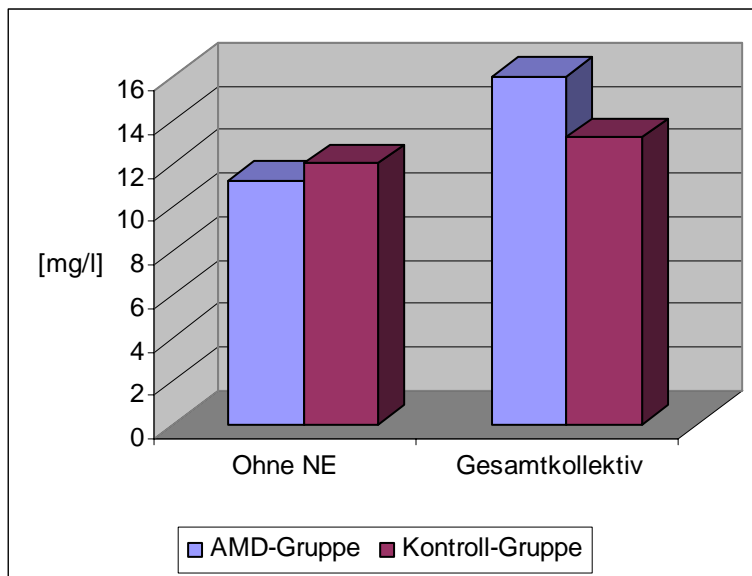
Grafik 9: Serumgehalt Vitamin C

6.3.5. Vitamin E (Tocopherol)

Der Serumgehalt von Vitamin E ist in der AMD-Gruppe 16,0 ($\pm 8,7$) mg/l signifikant höher als in der Kontroll-Gruppe 13,2 ($\pm 4,7$) mg/l. Nach Altersadjustierung ergab sich $p = 0,028$ und OR 1,089. Nach Ausschluss der Teilnehmer, die NE einnehmen, ist der Vitamin E Serumgehalt in der AMD-Gruppe 11,2 ($\pm 2,6$) mg/l geringfügig niedriger als in der Kontroll-Gruppe 12,0 ($\pm 2,6$) mg/l. Der Unterschied nach Altersadjustierung ist nicht signifikant $p = 0,861$ und OR 0,979.

Vitamin E Serumgehalt des Gesamtkollektivs [mg/l]

Serumgehalt des Vitamin E [mg/l]	AMD-Gruppe		Kontroll-Gruppe	
	Anzahl [n]	Mittelwert	Anzahl [n]	Mittelwert
Probanden ohne Nahrungsergänzungsmittel	25	11,2 ($\pm 2,6$)	51	12,0 ($\pm 2,6$)
Gesamtkollektiv	59	16,0 ($\pm 8,7$)	60	13,2 ($\pm 4,7$)



Grafik 10: Serumgehalt Vitamin E

6.3.6. Glutathion-Ratio

Die Glutathion-Ratio wird nach folgender Formel errechnet: $2 \times \text{freies Glutathion} / \text{gesamtes Glutathion} - \text{freies Glutathion}$. Sie gilt als Parameter für oxidative Prozesse im Körper. In der AMD-Gruppe (n = 54) 5,94 ($\pm 4,49$) war die Ratio geringfügig niedriger als in der Kontroll-Gruppe (56 Probanden) 6,27 ($\pm 8,01$). Die Altersadjustierung ergab $p = 0,439$ und OR 1,027. Es wurden 9 Glutathionmessungen aus dem Gesamtkollektiv auf Grund von Messfehlern ausgeschlossen.

6.4. Makulapigmentdichte (MPOD)

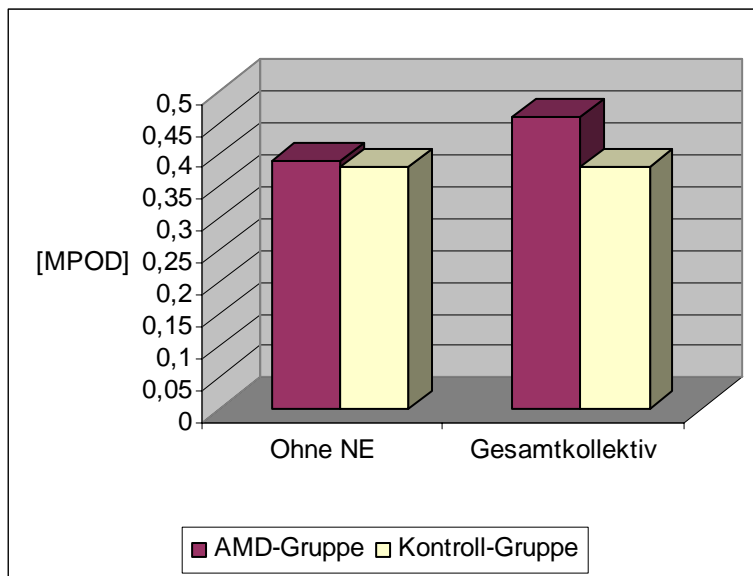
Bei der Messung der Makulapigmentdichte zeigte sich in der AMD-Gruppe 0,46 ($\pm 0,22$) eine höhere MPOD als in der Kontroll-Gruppe 0,38 ($\pm 0,19$). Nach Altersadjustierung ist jedoch kein signifikanter Unterschied erkennbar $p = 0,115$ und OR 5,198.

Die MPOD-Werte der Teilnehmer, die keine Nahrungsergänzungsmittel zu sich nehmen, zeigten folgende Werte: AMD-Gruppe 0,39 ($\pm 0,19$), Kontroll-Gruppe 0,38 ($\pm 0,19$). Es besteht keine Signifikanz nach Altersadjustierung $p = 0,767$ und OR 1,526.

Vergleicht man innerhalb der AMD-Gruppe die MPOD-Werte der Teilnehmer, die keine NE zu sich nehmen, 0,39 ($\pm 0,19$) mit denen die mit Carotinoidpräparaten supplementiert sind 0,53 ($\pm 0,22$) zeigt sich, dass die Werte der supplementierten Teilnehmer signifikant höher $p = 0,012$ sind.

Makulapigmentdichte des Gesamtkollektivs

MPOD	AMD-Gruppe		Kontroll-Gruppe	
	Anzahl [n]	Mittelwert	Anzahl [n]	Mittelwert
Probanden ohne Nahrungsergänzungsmittel	30	0,39 ($\pm 0,19$)	57	0,38 ($\pm 0,19$)
Gesamtkollektiv	59	0,46 ($\pm 0,22$)	60	0,38 ($\pm 0,19$)



Grafik 12: MPOD-Mittelwerte beider Gruppen

Eine getrennte Betrachtung der Geschlechter zeigte, dass der MPOD-Wert im Schnitt bei den männlichen Teilnehmern $0,43 (\pm 0,19)$ nicht signifikant höher ist, als bei den weiblichen Teilnehmern $0,41 (\pm 0,22)$, $p = 0,510$.

Die MPOD-Werte der Teilnehmer, die keine NE zu sich nehmen, zeigten ebenfalls keinen geschlechtsspezifisch signifikanten Unterschied: männliche Teilnehmer $0,40 (\pm 0,17)$, weibliche Teilnehmer $0,37 (\pm 0,21)$, $p = 0,351$.

Makulapigmentdichte

MPOD d	Frauen		Männer	
	Anzahl [n]	Mittelwert	Anzahl [n]	Mittelwert
Probanden ohne Nahrungsergänzungsmittel	43	$0,37 (\pm 0,21)$	44	$0,40 (\pm 0,17)$
Gesamtkollektiv	65	$0,41 (\pm 0,22)$	54	$0,43 (\pm 0,19)$

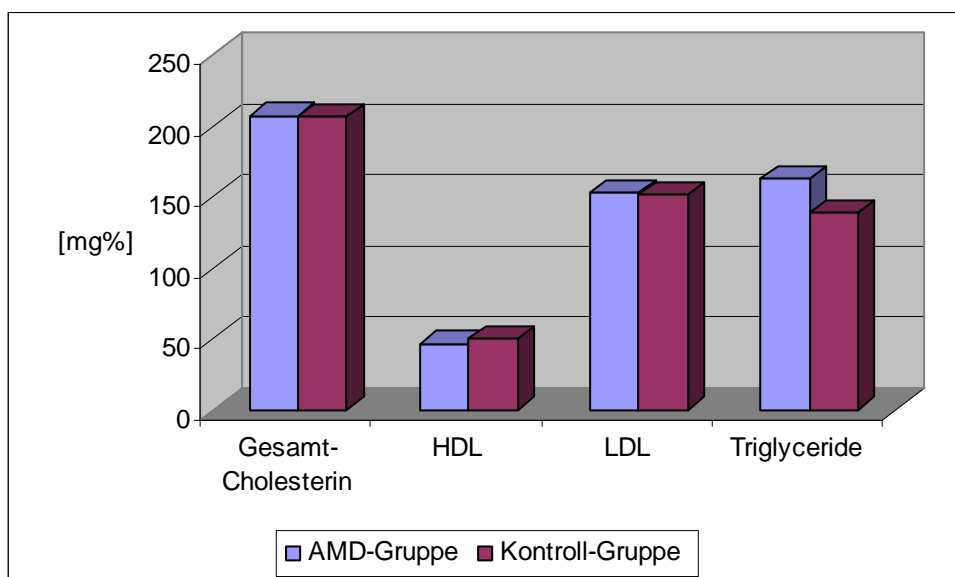
6.5. Blutfettwerte

Sowohl beim Gesamtcholesteringehalt (AMD-Gruppe $207,7 \text{ mg\%}$, Kontroll-Gruppe $206,8 \text{ mg\%}$, altersadjustiert $p = 0,073$, OR 1,009) als auch beim HDL (AMD-Gruppe $46,8 \text{ mg\%}$,

Kontroll-Gruppe 50,3 mg%, altersadjustiert $p = 0,623$, OR 0,994) ergaben sich kaum Unterschiede. Nur beim LDL zeigte sich nach Altersadjustierung eine Tendenz, dass höhere LDL-Spiegel das Risiko, an einer AMD zu erkranken, erhöhen (AMD-Gruppe 153,3 mg%, Kontroll-Gruppe 151,8 mg%, altersadjustiert $p = 0,054$, OR 1,011). Ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen zeigte sich bei den Triglycerid-Serumwerten. Die AMD-Gruppe 163,4 ($\pm 82,8$) mg% hatte deutlich höhere Triglycerid-Serumspiegel als die Kontroll-Gruppe 139,5 ($\pm 89,0$) mg%. Eine Altersadjustierung ergab $p = 0,024$ und OR 1,006. Somit hat eine Erhöhung der Triglycerid-Serumwerte um 1 mg%, eine Erhöhung des Erkrankungsrisiko um den Faktor 1,006 zur Folge. Der Wert eines Probanden musste wegen einer fehlerhaften Messung beim Gesamtcholesterin und LDL entnommen werden.

Blutfettwerte des Gesamtkollektivs

Blutfettwerte [mg%]	AMD-Gruppe		Kontroll-Gruppe	
	Anzahl [n]	Mittelwert	Anzahl [n]	Mittelwert
Gesamt-Cholesterin	58	207,7 ($\pm 46,7$)	60	206,8 ($\pm 42,2$)
HDL-Werte	59	46,8 ($\pm 16,5$)	60	50,3 ($\pm 20,9$)
LDL-Werte	58	153,3 ($\pm 44,6$)	60	151,8 ($\pm 39,2$)
Triglyceride	59	163,4 ($\pm 82,8$)	60	139,5 ($\pm 89,0$)



Grafik 11: Blutfett-Mittelwerte beider Gruppen

6.6. Korrelationen

6.6.1. Allgemeiner Hinweis

Der errechnete Korrelationskoeffizient r ist ein Wert zwischen $+1$ und -1 . Je näher der Wert an $+1$ liegt, desto stärker oder linearer korrelieren die beiden verglichenen Faktoren. Liegt der Wert bei -1 so liegt eine direkte, negative Korrelation vor. Dabei ist jedoch zu beachten wie signifikant diese Korrelation tatsächlich ist.

6.6.2. Korrelation zwischen Carotinoid-Index und Carotinoidserumspiegel

Zwischen den Carotinoid-Indices des Gesamtkollektivs ($n = 116$) und ihren Carotinoid-Serumspiegel ist keine Abhängigkeit feststellbar, $p = 0,860$, Korrelationskoeffizient $r = 0,017$. Auch bei getrennter Betrachtung ist weder in der AMD-Gruppe ($p = 0,440$, $r = 0,103$, $n = 58$) noch in der Kontroll-Gruppe ($p = 0,693$, $r = 0,053$, $n = 58$) eine signifikanten Korrelationen festzustellen.

6.6.3. Korrelation zwischen Carotinoidserumspiegel und der MPOD

Es besteht keine direkte Abhängigkeit zwischen den Carotinoid-Serumspiegeln und der Makulapigmentdichte im Auge. Die Signifikanz ($n = 116$) beträgt $p = 0,971$ und der Korrelationskoeffizient $r = -0,003$. In der AMD-Gruppe ($p = 0,483$, $r = 0,094$, $n = 58$) und der Kontroll-Gruppe ($p = 0,501$, $r = -0,090$, $n = 58$) sind getrennt betrachtet ebenfalls keine Abhängigkeiten zu erkennen.

6.6.4. Korrelation zwischen Carotinoid-Index und MPOD

Der Zusammenhang zwischen dem Carotinoid-Index und der Makulapigmentdichte im Gesamtkollektiv ist signifikant $p = 0,008$. Der Korrelationskoeffizient beträgt $r = 0,244$. Dies besagt, dass eine Korrelation sehr wahrscheinlich ist, aber wegen des niedrigen Korrelationskoeffizienten kein direkter Zusammenhang erstellt werden kann.

Ebenfalls signifikant $p = 0,037$ ist die Korrelation, wenn man die AMD-Gruppe ($n = 59$) allein betrachtet, mit einem Korrelationskoeffizienten $r = 0,272$. In der Kontroll-Gruppe allein ($n = 60$) dagegen ist keine Signifikanz erkennbar, $p = 0,114$ und $r = 0,206$.

6.6.5. Korrelation zwischen Lebensalter und MPOD

Eine Abhängigkeit zwischen dem Alter und der Makulapigmentdichte war nicht nachweisbar ($p = 0,164$, $r = 0,128$, $n = 119$), auch nicht bei alleiniger Betrachtung der Teilnehmer, die keine NE zu sich nehmen ($p = 0,789$, $r = 0,029$, $n = 87$).

6.6.6. Korrelation zwischen Body-Mass-Index (BMI) und MPOD

Es konnte kein Zusammenhang zwischen dem Body-Mass-Index und der Makulapigmentdichte festgestellt werden ($p = 0,212$, Korrelationskoeffizient $r = -0,115$, $n = 119$). Ebenfalls kein Zusammenhang war ab einer Grenze von $BMI > 29$ zu erkennen ($p = 0,678$, $r = 0,092$, $n = 23$).

6.7. Zusammenfassung der Ergebnisse

Beim Vergleich der AMD-Patienten mit der Kontroll-Gruppe ergaben sich folgende Ergebnisse. Bei den Risikofaktoren zeigte sich, dass die Zahl der Raucher in der AMD-Gruppe signifikant erhöht ist $p = 0,014$. Desweiteren ist das Lebensalter in der AMD-Gruppe höchst signifikant höher als in der Kontrollgruppe $p < 0,001$, so dass alle Werte altersangepasst wurden. Bezüglich der Irisfarbe und der Erkrankung an einer arteriellen Hypertonie gab es zwischen den beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede. Bei der Untersuchung des Ernährungsverhaltens unterscheidet sich die AMD-Gruppe ohne NE von der Kontrollgruppe durch eine signifikant niedrigere Carotinoidzufuhr $p = 0,038$ und OR 0,993. Zudem nahmen die Probanden der AMD-Gruppe signifikant häufiger tiefgefrorene Nahrung zu sich, $p = 0,034$. Hinsichtlich des BMI sind keine Unterschiede erkennbar.

Bei dem Antioxidantienstatus bei der Studiengruppen zeigten sich folgende Auffälligkeiten:

Der Carotinoidserumspiegel der Teilnehmer, die keine NE zu sich nehmen, ist in der AMD-Gruppe tendenziell niedriger, die Altersadjustierung ergab $p = 0,056$ und OR 0,995.

Die Vitamin C-Serumspiegel waren in der AMD-Gruppe signifikant erhöht, auch nach Altersadjustierung $p = 0,005$ und OR 1,163. Bei den Teilnehmern, die keine zusätzlichen Vitamin C Präparate zu sich nehmen, zeigten sich ebenfalls tendenziell höhere Werte in der AMD-Gruppe, altersadjustiert $p = 0,065$ und OR 1,150. Ein signifikanter Unterschied war auch bei dem Vitamin E-Serumgehalt zu verzeichnen, im Gesamtkollektiv hatte die AMD-Gruppe höhere Werte, $p = 0,028$ und OR 1,089. Bei den übrigen Werten waren keine auffälligen Unterschied zu verzeichnen.

Beim Vergleich der Blutfettwerte, zeigten sich nach Altersadjustierung in der AMD-Gruppe tendenziell höhere LDL-Werte ab, $p = 0,054$ und OR 1,011. Die Triglycerid-Werte waren in der AMD-Gruppe signifikant erhöht, altersadjustiert $p = 0,024$ und OR 1,006. Die Gesamtcholesterin- und HDL-Werte zeigten keine bedeutenden Unterschiede auf.

Bei der Messung der Makulapigmentdichte zeigte sich innerhalb der AMD-Gruppe, die NE zu sich nehmen, signifikant höhere Werte $p = 0,012$.

Bei den Korrelationen lies sich zwischen der Carotiniodzufuhr und der Makulapigmentdichte, $p = 0,008$ und $r = 0,244$, ein Zusammenhang erkennen.

7. Diskussion

7.1. Risikofaktoren für die Entwicklung einer AMD

Bevor die Rolle von Antioxidantien bei der der Entwicklung einer AMD diskutiert wird, sollte zunächst noch ein Blick auf die exogenen und endogenen Risikofaktoren geworfen werden. Denn auch sie können einen wesentlichen Anteil an der Entstehung einer Erkrankung haben und sollten deshalb im Gesamtbild nicht außer Acht gelassen werden.

Als gesicherte exogenen Risikofaktoren für die Entstehung einer AMD gelten bisher das Rauchen und eine erhöhte UV-Lichtexposition. Bezüglich des Rauchens konnten wir bei unseren Studienteilnehmern feststellen, dass in der AMD-Gruppe 59,3% rauchen oder geraucht haben, während in der Kontroll-Gruppe es nur 36,7% waren ($p = 0,014$). Somit zeigt sich auch in unserem Studienkollektiv das Rauchen als Risikofaktor.

Die exakten Wirkungsmechanismen sind zwar noch nicht bekannt, aber sowohl das Rauchen als auch UV-Licht führen zu oxidativen Schäden an der Makula. (Gandorfer et al., 2002; Grehn, 2003; Schütt and Holz, 2001) So wurde in einer experimentellen Studie wurde beobachtet, dass das Acrolein, ein toxischer Bestandteil des Zigarettenrauchs, in RPE-Zellen durch Oxidation eine mitochondriale Dysfunktion verursacht. (Linhong Jia et al., 2007) Dieser toxische Effekt wurde auch bei dem A2-E, einer Teilkomponente des Lipofuscin, festgestellt, welches in den anfallenden Stoffwechselprodukten der RPE-Zellen enthalten und an der Entstehung der Drusen beteiligt ist. (Gandorfer et al., 2002; Holz et al., 1999; Schütt et al., 2000) Hierdurch verdichten sich die Hinweise, dass die oxidativen Schäden in den RPE-Zellen ein entscheidender Schritt in der Pathogenese der AMD ist.

Als endogene Faktoren für die Entstehung einer AMD werden genetische Komponenten diskutiert. Zwillingsstudien zeigen unter Berücksichtigung von Umwelteinflüssen eine signifikante Häufung der AMD unter Geschwisterpaaren. (Schütt and Holz, 2001; Seddon et

al., 2005) Obwohl noch keine gesicherten Gensequenzen vorliegen, werden eine Beteiligung des ABCR-Allels und ein Locus auf dem Chromosom 10 vermutet. (Bird, 1996;Grehn, 2003;Holz and Pauleikhoff, 1997;Schütt and Holz, 2001) Andere Studien sehen einen Zusammenhang zwischen bestimmten DNA-Sequenzvariationen des Immun-Komplement-Faktors H.(Despriet et al., 2006;Donosco et al., 2006;Schaumberg et al., 2006) Einzelne Nukleotid Polymorphismen, wie die oft diskutierte Tyr402His-Sequenz, sind besonders häufig mit der AMD assoziiert.

Immer wieder wird diskutiert, ob Patienten mit einer hellen Iris, einen geringeren photooxidativen Schutz besitzen und dadurch häufiger an einer AMD erkranken. (Mitchell et al., 1998;Schütt and Holz, 2001) Andere Studien konnten jedoch keinen Einfluss der Irisfarbe auf die AMD nachweisen. (Holz and Pauleikhoff, 1997;Khan et al., 2006;Mitchell et al., 2003) Hierbei ist zu erwähnen, dass die größte Studien hierzu, die Blue Moutains Eye Study, welche die helle Irisfarbe zunächst als AMD-Risikofaktor beschreibt, nach fünf Jahren allerdings keinen Zusammenhang mehr zwischen der Irisfarbe und der Entwicklung einer AMD feststellen konnte. (Mitchell et al., 1998;Mitchell et al., 2003) Bei unserer Studie hatten in der AMD-Gruppe 71,2% und in der Kontroll-Gruppe 60% der Teilnehmer eine helle Irisfarbe. Dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant ($p = 0,245$). Das Fehlen eindeutiger Hinweisen bezüglich des Einflusses der Irisfarbe auf die AMD lässt die helle Irisfarbe als Risikofaktor unwahrscheinlich erscheinen.

Weiterhin soll auch der arterielle Hypertonus einen Einfluss auf die AMD haben.(Gandorfer et al., 2002;Metelitsina et al., 2006;Schütt and Holz, 2001) So wurde beobachtet, dass AMD-Patienten mit einem arteriellen Hypertonus einen geringeren choroidalen Blutfluss haben und somit einem höheren Risiko für eine choroidale Neovaskularisation und einer schnelleren Progression der AMD unterliegen.(Metelitsina et al., 2006) Unsere Daten zum

Bluthochdruck wurden den anamnestischen Angaben der Teilnehmer entnommen. Es wurden keine Blutdruckwerte gemessen oder ein etwaiger Erfolg der medikamentösen Therapie berücksichtigt. Dabei konnten wir keinen Zusammenhang zwischen einem arteriellen Hypertonus und einer Erkrankung durch AMD feststellen. In der AMD-Gruppe gaben 72,1% und in der Kontroll-Gruppe 69,4% der Teilnehmer an, an einem Bluthochdruck erkrankt zu sein.

Der wohl wichtigste endogene Risikofaktor für die Entstehung einer AMD scheint das Alter selbst zu sein. (Gandorfer et al., 2002; McDonald et al., 2005; Schütt and Holz, 2001) Es kommt im Alter zu diversen Veränderungen im RPE, wie z.B. einer Abnahme des Melaninergehalts, welches lichtempfindliche Strukturen schützt, oder der Anhäufung des toxischen Stoffwechselproduktes Lipofuscin. (Schütt and Holz, 2001) Diese Veränderungen scheinen ein entscheidender Prozess in der Pathogenese der AMD zu sein. (McDonald et al., 2005; Schütt and Holz, 2001; Tezel et al., 2004) Untersuchungen bei einer Gruppe von über 99-jährigen zeigte, dass ausnahmslos alle Teilnehmer AMD-typische Netzhautveränderungen hatten. (Cypel et al., 2006) In unserer Studie war ein Einschlusskriterium ein Alter von mindestens 50 Lebensjahren, da definitionsgemäß eine AMD erst ab dem 50. Lebensjahr auftreten kann. Sonst wurde bezüglich des Alters willkürlich rekrutiert. Bei einem Altersvergleich der Gruppen wird deutlich, dass die AMD-Gruppe im Schnitt 8,1 Jahre älter ist und dadurch ein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe besteht ($p < 0,001$). All diese Ergebnisse sprechen für die Annahme, dass erhöhtes Alter das Risiko an einer AMD zu erkranken wesentlich erhöht.

7.2. Carotinoide und Ernährung

7.2.1. Einfluß der Carotinoidaufnahme auf die AMD

In einigen Studien wurde beobachtet, dass ein vermindertes AMD-Risiko bei erhöhter Carotinoidzufuhr besteht. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004; Moeller et al., 2000; Seddon et al., 1994) Die durchschnittliche Lutein-Aufnahme mittels Ernährung beträgt in Europa derzeit etwa 2,2 mg pro Tag. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004) Schon bei einer täglichen Aufnahme von 6-14mg Lutein konnte gezeigt werden, dass das Erkrankungsrisiko für eine AMD um 50% sank. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004)

Bei der Auswertung unseres Ernährungsfragebogens zeigte sich, dass die AMD-Gruppe auf Grund ihrer Essgewohnheiten deutlich weniger carotinoidhaltiges Obst und Gemüse zu sich nahm. Der Mittelwert der täglichen Carotinoidaufnahme ist mit 3,7 mg bei der AMD-Gruppe deutlich niedriger als bei der Kontroll-Gruppe mit 4,6 mg. Beim Vergleich der Carotinoidindices, also der durchschnittlichen monatlichen Carotinoidaufnahme, war in beiden Gruppen nach Altersadjustierung ein signifikanter Unterschied ($p = 0,038$, OR 0,997) zu verzeichnen. Dies besagt, dass die Einnahme von 1 mg Carotinoiden mehr pro Monat das Erkrankungsrisiko für eine AMD um den Faktor 0,997 senkt. Also würde eine zusätzliche Einnahme von 230 mg Carotinoiden pro Monat das Erkrankungsrisiko um den Faktor 0,5 senken ($0,997 \text{ hoch } 230 = 0,50$) bzw. halbieren. Unsere Berechnungen zur Reduktion des Erkrankungsrisikos um 50% mit 230 mg mehr pro Monat bzw. eine tägliche Einnahme von 11,4 mg/d ($230 \text{ mg} / 30 \text{ d} = 7,7 \text{ mg/d} \Rightarrow 7,7 \text{ mg/d} + 3,7 \text{ mg/d} = 11,4 \text{ mg/d}$) entspricht den neuen Empfehlungen einer zusätzlichen Carotinoidzufuhr von 6 -14 mg täglich. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004) Die Übereinstimmung der Studienergebnisse bestärkt die Annahme, dass eine geringere Carotinoidaufnahme das AMD-Erkrankungsrisiko erhöht.

7.2.2. Resorption von Carotinoiden

Allein die Menge der Carotinoidezufuhr sagt allerdings noch nicht aus, wieviel letztlich vom Körper aufgenommen wird. Die Resorption der Carotinoide ist von vielen unterschiedlichen Faktoren abhängig. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004;Castenmiller et al., 1999;Tyssandier et al., 2002;Tyssandier et al., 2003;van het Hof et al., 2000)

So spielt die Zubereitung der carotinoidehaltigen Nahrung eine große Rolle, z.B. vereinfacht die Zerkleinerung und das Kochen der carotinoidehaltigen Lebensmittel das Herauslösen der Carotinoide aus ihren Zellstrukturen. (Castenmiller et al., 1999;van het Hof et al., 2000) Das Einfrieren dieser Lebensmittel hingegen führt zu einer erheblichen Abnahme des Carotinoidgehalts. (Holden et al., 1999) Der Lutein-Gehalt eines Broccoli beträgt z.B. im rohen Zustand 2,5mg/100g und gekocht 2,2mg/100g. (Holden et al., 1999) Wird der Broccoli jedoch eingefroren und dann gekocht beträgt der Lutein-Gehalt nur noch 0,8mg/100g. (Holden et al., 1999) Das häufige Verspeisen von Tiefkühlkost könnte also zu einer mangelhaften Carotinoideversorgung führen. Auch in unserer Studie zeigte sich, dass die AMD-Patienten anamnestisch signifikant häufiger Tiefkühlkost zu sich nehmen $p(\text{altersadjustiert}) = 0,034$ und OR 1,376. Die OR besagt in diesem Fall, dass das Risiko an einer AMD zu erkranken um den Faktor 1,376 steigt, wenn im Ernährungsfragebogen bezüglich der Tiefkühlkost eine Häufigkeitsstufe mehr angegeben wurde.

Bei der Resorption von Carotinoiden wird Fett als Transportmedium benötigt, damit sich die Carotinoide in den Micellen lösen können. (Castenmiller et al., 1999;van het Hof et al., 2000) Außerdem konkurrieren andere Carotinoide wie Beta-Carotin und Lycopin mit den Carotinoiden um die Aufnahme in die Chylomicronen. (van den Berg and van Vliet, 1998) Wobei es bei gleichzeitiger Supplementierung mittelfristig (3 Wochen) keine Verminderung der Carotinoidekonzentrationen zu beobachten war. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004;Tyssandier et al., 2002)

Hinzu kommt, dass interindividuelle Unterschiede wie Alter, Geschlecht oder Rauchen möglicherweise auch einen Einfluss auf die Carotinoid-Resorption haben. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004)

7.2.3. Zusammenhang zwischen Carotinoideaufnahme und -serumspiegel

In den meisten Studien wird gezeigt, dass durch eine vermehrte Zufuhr an Carotinoiden die Serumkonzentration von Carotinoiden erhöht werden kann. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004; Hammond et al., 1997; Johnson et al., 2000; Landrum et al., 1997; Yeum et al., 1996) Bei längerfristigen Supplementierungen von 12mg/d bis zu 30mg/d Lutein waren schon nach 4 Wochen signifikante Erhöhungen in den Serumspiegeln zu erkennen. (Hammond et al., 1997; Johnson et al., 2000; Landrum et al., 1997; Yeum et al., 1996) In einer weiteren Studie mit 19 Probanden wurde zudem eine lineare Korrelation ($p < 0.001$, Korrelationskoeffizienten $r = 0.74$) zwischen der Carotinoideaufnahme und der Serumkonzentration beschrieben. (Bone et al., 2000) Zu derselben Schlussfolgerung, dass eine Abhängigkeit zwischen der Carotinoid-Aufnahmemenge und dem Carotinoid-Serumspiegel besteht, kommt eine Studie, deren Patientenkollektiv gesund und zwischen 18 – 50 Jahre alt war. (Ciulla et al., 2001)

In unserer Studie konnten wir im gesamten Teilnehmerkollektiv keine Korrelation ($p = 0,752$, Korrelationskoeffizient $r = 0,030$) zwischen der monatlichen Carotinoideaufnahme und dem Serumspiegel feststellen. Auch bei getrennter Betrachtung war sowohl in der AMD-Gruppe ($p = 0,227$, $r = 0,148$, $n = 56$), als auch in der Kontroll-Gruppe ($p = 0,706$, $r = 0,051$, $n = 57$) ebenfalls keine Abhängigkeit zu erkennen.

Aus vorangegangenen Studien lässt sich schließen, dass prinzipiell durch eine höhere Carotinoidzufuhr auch die Carotinoidserumspiegel erhöht werden können. Die Tatsache, dass keine direkte Abhängigkeit bei einem älteren Kollektiv (>50 J.) erkennbar ist, jedoch bei einem jüngeren Kollektiv (<50 J.) schon, bestärkt die Theorie, dass die Aufnahme der

Carotinoide ein empfindlicher und komplizierter Prozess ist, der möglicherweise im Alter beeinträchtigt wird. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004)

7.2.4. Der Einfluss der Carotinoidserumkonzentrationen auf die AMD

Es wird immer wieder diskutiert, dass eine erniedrigte Carotinoidserumkonzentration möglicherweise das Risiko, an einer AMD zu erkranken, erhöht. (Bone et al., 2000;Gale et al., 2003;Moeller et al., 2000). So konnte Moeller et al in einer Studie zeigen, dass Probanden mit niedrigen Serumspiegeln ($<142 \mu\text{g/L}$) ein 70% höheres Erkrankungsrisiko hatten, als die mit höheren Spiegeln ($>382 \mu\text{g/L}$). (Moeller et al., 2000)

Die in unserer Studie gemessenen Serumkonzentrationen waren vergleichbar mit den Werten anderer Studien (Bone et al., 2000;Moeller et al., 2000) und zeigten in der AMD-Gruppe niedrigere Carotinoidserumkonzentration, die allerdings nicht signifikant waren, nach Altersadjustierung $p = 0,095$ OR 0,998. Vergleicht man die Kontroll-Gruppe mit den AMD-Probanden, die keine Nahrungsergänzungsmittel (NE) einnehmen, so verdeutlicht sich der Trend, dass die AMD-Patienten niedrigere Carotinoidserumwerte haben, nach Altersadjustierung $p = 0,056$ OR 0,995.

Obwohl unsere Ergebnisse keine signifikanten Unterschiede aufweisen, deutet sich ein Trend an, der mit den bisherigen Beobachtungen im Einklang steht. Dies bestärkt den Verdacht, dass niedrige Carotinoidserumkonzentrationen ein Hinweis für ein erhöhtes AMD-Risiko sind.

Auffällig ist dabei, dass AMD-Patienten, die NE zu sich nahmen, trotzdem niedrigere Serumspiegel als die Kontrollgruppe haben, die keine NE einnahmen. Eine mögliche Erklärung hierfür wiederum wäre die zunehmende Beeinträchtigung der Carotinoidaufnahme im Alter. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004)

Intraindividuelle Schwankungen des Carotinoidserumspiegels sind bekannt, aber meist nur über längere Zeiträume zu beobachten. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004) Wir führten bei jedem Teilnehmer aus studientechnischen Gründen nur eine einmalige

Serumspiegelbestimmung durch. Wir gehen davon aus, dass individuelle Schwankungen durch die große Teilnehmerzahl ausgeglichen werden.

7.2.5. Auswirkungen des Body-Mass-Index und des Körperfettgehalts auf die AMD

Es wird beschrieben, dass das Fettgewebe, welches als Hauptspeicherort der Carotinoide gilt speichert, mit der Retina um die Aufnahme von Carotinoiden konkurriert. (Broekmans et al., 2002; Johnson et al., 2000) Man könnte daher annehmen, dass erhöhter Körperfettgehalt eine verringerte Carotinoidaufnahme in die Retina zur Folge hat und durch den fehlenden Schutz der Carotinoide in der Retina das Risiko an einer AMD zu erkranken erhöht. Andere Studien erklären den Zusammenhang einer Adipositas und der AMD durch physiologische Veränderungen, die in einem adipösem Körper stattfinden, wie z.B. erhöhter oxidativer Stress oder Veränderungen im Lipoprotein-Blutprofil. (Johnson, 2005; Seddon et al., 2003) In einer weiteren Studie wurde eine signifikant negative Korrelation zwischen BMI und MPOD bei Leuten mit einem BMI > 29 beschrieben. (Davies and Morland, 2004)

Anhand unseres Kollektivs konnten wir weder ein Unterschied bezüglich dem BMI zwischen beiden Gruppen, noch ein Korrelation zwischen dem BMI und der MPOD feststellen ($p = 0,150$, $r = -0,154$, $n = 89$). Auch bei adipösen Probanden mit einem BMI > 29 konnten wir keine Korrelation mit der MPOD feststellen ($p = 0,964$, $r = 0,011$, $n = 18$).

Aus den vorliegenden Daten lässt sich letztendlich nicht klären, ob ein Zusammenhang zwischen vermehrter Carotinodspeicherung im körpereigenem Fett und verringerter MPOD besteht. Schließlich könnte eine Korrelation zwischen erhöhtem BMI und verringerter MPOD auch durch unterschiedliche Lebensweisen und ein carotinoidärmeres Ernährungsverhalten bei Probanden mit hohem BMI erklären. (Rock et al., 2002)

7.2.6. Geschlechtsunterschiede im Carotinoidserumgehalt

Die umstrittene Behauptung, dass Frauen häufiger an einer AMD erkranken (Grehn, 2003; McDonald et al., 2005), wirft die Frage auf, ob Geschlechtsunterschiede im Carotinoidserumgehalt bestehen. Johnson et al haben bei männlichen Probanden höhere Carotinoidwerte im Serum gemessen. (Johnson et al., 2000) Unsere Daten ergeben bei Männern ebenfalls einen höheren Carotinoidserumgehalt bei den Männern. Obwohl dieser Unterschied bei den Probanden, die keine NE zu sich nehmen, keine Signifikanz aufweist ($p = 0,355$), ist die Differenz der Mittelwerte (Männer: 268,8 $\mu\text{g/l}$, Frauen: 241,1 $\mu\text{g/l}$) doch deutlich. Wodurch es zu diesem moderaten Geschlechtsunterschied im Carotinoidserumgehalt kommt und welche Auswirkungen dies auf das Auftreten der AMD haben kann, ist nicht geklärt.

7.3. Bedeutung der Vitamine und Antioxidantien im Zusammenhang mit der AMD

7.3.1. Beta-Carotin-Serumspiegel

Neben Lutein und Zeaxanthin, ist es auch interessant welche Bedeutung andere Antioxidantien, wie z.B. das beta-Carotin, bei der Entstehung der AMD haben. Obwohl beta-Carotin nicht direkt in der Makula enthalten ist (Handelman et al., 1988), wird eine verminderte Serumkonzentration als möglicher Risikofaktor diskutiert. (Holz and Pauleikhoff, 1997) Während in einer Studie beobachtet wurde, dass niedrige Gesamt-Carotinoidspiegel inklusive beta-Carotin das AMD-Risiko erhöhen (Alves-Rodrigues and Shao, 2004), wurde in einigen anderen Studien kein bedeutender Unterschied bezüglich der beta-Carotin-Serumspiegel bei AMD-Patienten und der Kontrollgruppe beschrieben. (Mares-Perlman et al., 1995; Smith et al., 1997) In unserem Probandenkollektiv, welche keine NE zu sich nehmen, sind deutliche Unterschiede zwischen den Serumspiegeln beider Gruppen zu verzeichnen: Kontroll-Gruppe 498,2 ($\pm 401,8$) $\mu\text{g/l}$, AMD-Gruppe von 304 ($\pm 227,7$) $\mu\text{g/l}$. Nach Altersadjustierung ergab sich allerdings kein signifikanter Unterschied $p = 0,094$ und die OR

0,998. Anhand der unterschiedlichen Studienergebnisse, lässt sich nicht sicher sagen, welchen Einfluss beta-Carotin auf die Entwicklung einer AMD hat. Der beachtliche Unterschied in den Mittelwerten deutet allerdings eine Abnahme des beta-Carotin-Serumwertes im Alter an.

7.3.2. Vitamin A, C, E -Serumspiegel

Vitamin A-Serumspiegel wurden in der Vergangenheit bei AMD-Patienten einmal als signifikant erhöht beschrieben, (Nowak et al., 2003) eine andere Studie konnten keine Unterschiede zwischen AMD-Patienten und Kontroll-Probanden feststellen werden. (Seddon et al., 1994) In unserer Studie zeigte sich bei den nicht-supplementierten Teilnehmern ebenfalls keine signifikanter Unterschied, $p(\text{altersadjustiert}) = 0,818$, OR 0,979. Bezüglich der Vitamin C-Serumspiegel werden in der Literatur niedrigere Mittelwerte bei AMD-Patienten, jedoch ohne Signifikanz, beschrieben. (Nowak et al., 2003) Bei einem Vergleich unserer beiden Gruppen ist der Vitamin C-Serumspiegel in der AMD-Gruppe höchst signifikant erhöht, was sich zunächst auf die häufigere Einnahme von Vitamin C-Präparaten in der AMD-Gruppe zurückzuführen ließ. An unserem Patientenkollektiv, welches keine Vitamin C Präparate einnahm, konnten wir allerdings in der AMD-Gruppe ebenfalls höhere Vitamin C Werte feststellen, die Mittelwerte in der AMD-Gruppe lagen bei 10,1mg/l und in der Kontroll-Gruppe bei 9,0 mg/l . Altersadjustiert zeigt sich einen Trend $p = 0,065$ und OR 1,150, der andeutet, dass eine Vitamin C Spiegelhöhung um 1 mg/l das Risiko an einer AMD zu erkranken um den Faktor 1,15 erhöht.

Die Vitamin E-Serumspiegel in anderen Studien zeigen keine Unterschiede oder nicht-signifikant niedrigere Werte bei AMD-Patienten. (Nowak et al., 2003; Seddon et al., 1994; Smith et al., 1997) Auch in unserer Studie, zeigten sich bei den Teilnehmern, welche keine Vitamin E Präparate einnahmen, nach Altersadjustierung kein Unterschied $p = 0,861$ und OR 0,979.

Zusammenfassend bleibt zu sagen, dass die Serumunterschiede in den Vitaminen A, C und E zunächst keine starken Hinweise auf eine ausschlaggebende Veränderung im Antioxidationsstatus bei AMD-Patienten geben. Zu beachten ist jedoch, dass die Vitamin C Spiegel in der AMD-Gruppe erhöht waren. Obwohl der Unterschied nicht signifikant ($p = 0,065$) ist, zeichnet sich doch ein Trend und eine verhältnismäßig hohe Odds Ratio (1,150) ab. Um diese Veränderung erklären und einordnen zu können, muss ein Blick auf die Komplexität des Antioxidationsystems geworfen werden. Das menschliche Antioxidationsystem besteht aus einer Vielzahl von chemisch-verschalteten Antioxidantien die eine gewisse Hierarchie aufweisen. (Buettner, 1993) Wird ein Antioxidans stark beansprucht oder erschöpft, so wird das nächste in der Hierarchie wirksam bzw. durch ein anderes Antioxidans wieder regeneriert. (Buettner, 1993; Sharma and Buettner, 1993) Durch dieses System wird eine totale Entgleisung des antioxidativen Schutzmechanismus verhindert. Es gibt Hinweise, dass im Körper das Vitamin C in der Kette der Antioxidantienhierarchie eine endständige Position hat. Dies bedeutet, dass erst nachdem der Schutz der anderen Antioxidantien ausgeschöpft ist, es zu einer Beanspruchung und Veränderung des Vitamin C-Spiegels kommt. (Sharma and Buettner, 1993) Aus diesem Grund halten wir also schon eine leichte Veränderung im Serumspiegel des Vitamin C für erwähnenswert. In dieser Funktion ist das Vitamin C mitunter auch für die Regeneration des membranständigen Vitamin E zuständig. Dieses wiederum schützt, wie die Carotinoide auch, vor Lipidperoxidation. Eine Erhöhung des Vitamin C lässt also vermuten, dass dem eine starke Beanspruchung des Vitamin E und anderer Antioxidantien vorausgegangen ist. Mit anderen Worten, der Körper ist evtl. einem erhöhten oxidativen Stress ausgesetzt oder es liegt ein verminderter antioxidativer Schutz per se vor.

7.3.3. Glutathion-Ratio

Ein weiterer Parameter der Auskunft über eine oxidative Belastung gibt, ist das Glutathion. Bisher wird angenommen, dass nicht die Gesamt-Glutathion Menge ausschlaggebend ist, sondern der Anteil an oxidiertem Glutathion im Blut. (Samiec et al., 1998) Ein hoher Anteil an oxidiertem Glutathion spiegelt sich in einer niedrigeren Glutathio-Ratio wieder. Anhand unserer Daten lässt sich eine niedrigere Ratio in der AMD-Gruppe feststellen. Der Unterschied in den beiden Gruppen, wird allerdings durch die Altersadjustierung ($p = 0,439$, OR 1,027) relativiert, so dass kein signifikanter Unterschied erkennbar bleibt. Da sich die Normwerte der Glutathion-Ratio jedoch altersabhängig ändern, (Winkler et al., 1999) bestätigt dieses Ergebnis, dass im Alter der antioxidative Schutz nachlässt.

7.4. Makulapigmentdichte

7.4.1. Unterschiede in der Makulapigmentdichte

Die Bedeutung der Makulapigmentdichte (MPOD) für die Entwicklung einer AMD bleibt weiterhin umstritten. Die unterschiedlichen Messmethoden in den einzelnen Studien, wie z.B. die Raman Spektrographie, (Alves-Rodrigues and Shao, 2004; Bernstein et al., 2002) oder die heterochromatischen Flickerphotometrie (Bone et al., 2000) erschweren den direkten Vergleich der Ergebnisse. Berendschot et al konnte zum Beispiel zeigen, dass an einer Probandengruppe verschiedene Messmethoden unterschiedliche Ergebnisse aufweisen können. (Berendschot and van Norren, 2005)

Zu unserer Bestimmungsmethode, der heterochromatischer Flickerphotometrie, lässt sich allerdings sagen, dass in zahlreichen Studien eine hohe Korrelation mit herkömmlichen Meßmethoden und eine hohe Reliabilität nachgewiesen wurde. (Ciulla and Hammond, 2004; Hammond et al., 1997; Landrum et al., 1997; Snodderly et al., 2004; Wooten et al., 1999) Da es sich um eine psychophysische Meßmethode handelt, sind die Messungen von der Motivation und tageszeitlichen Verfassung der Teilnehmer abhängig. (Snodderly et al.,

2004;Wooten et al., 1999) Bei der Methode der Flickerphotometrie ist eine Fixierung eines zentralen Punktes notwendig, so dass diese Methode nur bis zu einer bestimmten Visusstufe möglich ist. Um die Fixation des jeweiligen Probanden überprüfen zu können, wäre eine Fixationskontrolle mittels eines Eyetrackers sinnvoll. Bei dem Prototyp unseres Flickerphotometers hatten wir jedoch keine Fixationskontrolle zur Verfügung.

Bernstein et al kamen in ihrer Studie, die mit einem Raman Spektrograph durchgeführt wurde, zu dem Schluss, dass bei AMD-Patienten die Makulapigmentdichte im Vergleich zu Kontrollen niedriger ist. (Bernstein et al., 2002) Zu dem selbem Ergebnis kommt auch eine Studie von Beatty et al, in der mit Hilfe der Flickerphotometrie wurden die MPOD eines Kollektiv mit 9 AMD-Patienten Augen verglichen wurde. (Beatty et al., 2001) Bone et al führten eine direkte quantitative Messung des Makulapigments an Autopsie-Augen durch. Darunter waren auch die Augen von 9 AMD-Patienten, bei denen ebenfalls eine geringere Makulapigmentmenge gemessen wurde. (Bone et al., 2000) Die geringen Probandenzahlen der beiden zuletztgenannten Studien geben den Ergebnissen allerdings eine eingeschränkte Aussagekraft.

Neuere Studien geben wiederum Hinweise darauf, dass kein Unterschied in der MPOD bei AMD-Patienten und Kontrollen zu erkennen ist und dass die MPOD wohl keine signifikante Rolle in der AMD spielt. (Berendschot et al., 2002;Ciulla and Hammond, 2004;Kanis et al., 2007)

Unsere Studienergebnisse zeigen, dass die AMD-Gruppe sogar höhere MPOD-Werte hatte. Altersadjustiert besteht aber kein signifikanter Unterschied $p(\text{altersadjustiert}) = 0,115$ und OR 5,198 zwischen den beiden Gruppen. Beim Vergleich aller nicht-supplementierten Teilnehmer beider Gruppen zeigt sich kaum noch ein Unterschied in den MPOD Spiegeln beider Gruppen $p(\text{altersadjustiert}) = 0,767$ und OR 1,526. Wir gehen davon aus, dass die MPOD Erhöhung in der AMD-Gruppe auf die Supplementierung zurückzuführen ist.

Wenn man von der Unterschiedlichkeit der verschiedenen Messmethoden absieht, verdichten sich die Hinweise, dass kaum Unterschiede in der MPOD bei AMD-Patienten und Kontrollen vorliegen.

7.4.2. Zusammenhang zwischen Carotinoid-Index und der Makulapigmentdichte

In unserer Studie hat der Carotinoid-Index, also die durchschnittlich-monatliche Carotinoidzufuhr, eine positive Korrelation mit der MPOD $p = 0,008$ und einem Korrelationskoeffizient $r = 0,244$. Das heißt, je mehr Carotinoide mit der Nahrung aufgenommen werden, desto höher war die MPOD, auch wenn der niedrige Korrelationskoeffizient eine lineare Korrelation unwahrscheinlich macht. Unsere Ergebnisse sind mit anderen Studien vergleichbar, auch hier wurde eine positive Korrelation festgestellt $p < 0,0005$ und $r = 0,21$. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004)

7.4.3. Zusammenhang zwischen Carotinoidserumgehalt und der Makulapigmentdichte

Wenn der Carotinoid-Index eine positive Korrelation mit der MPOD hat, könnte man auch davon ausgehen, dass der Serum-Carotinoidgehalt ebenfalls mit der MPOD positiv korreliert ist. In anderen Studien konnte ebenfalls eine positive Korrelation zwischen dem Serumgehalt und der MPOD beobachtet werden. (Alves-Rodrigues and Shao, 2004; Bone et al., 2000)

Unserer Studienergebnisse dagegen liefern keine Anhalt für eine Korrelation $p = 0,971$ und $r = -0,003$. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass sich das Carotinoid-Serumprofil einer ständigen nahrungsabhängigen Fluktuation unterliegt, während sich die MPOD wenn nur langsam ändert. Eine Abhängigkeit von Serumspiegel zu MPOD scheint wahrscheinlich, konnte jedoch in unserer Studie nicht nachgewiesen werden.

7.4.4. Einfluß des Lebensalters auf die Makulapigmentdichte

In den bisherigen Studien wird eine Veränderung der MPOD im Alter unterschiedlich diskutiert. Beatty et al beschreiben eine negative Korrelation zwischen dem Alter und der Makulapigmentdichte. (Beatty et al., 2001) Die Mehrzahl der Studien konnten jedoch wiederum keine Abhängigkeit nachweisen. (Berendschot and van Norren, 2005; Ciulla and Hammond, 2004; Davies and Morland, 2004) Aus unseren Daten konnte kein Zusammenhang zwischen Alter und MPOD festgestellt werden $p = 0,164$ und $r = 0,128$, auch nicht nach alleiniger Betrachtung der nicht-supplementierten Teilnehmer $p = 0,789$ und $r = 0,029$.

7.4.5. Geschlechtsunterschiede in der Makulapigmentdichte

Die MPOD der Probanden zeigte in anderen Studien keine wesentlichen Geschlechtsunterschiede. (Davies and Morland, 2004; Johnson et al., 2000) Auch aus unseren Daten wird bei den nicht-supplementierten Probanden kein signifikanter Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Teilnehmern ersichtlich ($p = 0,351$).

7.5. Bedeutung der Blutfette bei AMD-Patienten

Die Untersuchung der Blutfette wurde veranlasst, weil beim Pathomechanismus der AMD eine gewisse Parallele zur Arteriosklerose vermutet wird. (Belda Sanchis et al., 2001; Rudolf et al., 2004) Somit sollte der Einfluss der gängigsten Risikofaktoren der Arteriosklerose, wie niedriges HDL, Hypertriglyceridämie und Hypercholesterinämie, auf die AMD geprüft werden. Die geringen Unterschiede in unseren Daten und die widersprüchlichen Beobachtungen in anderen Studien (van Leeuwen, 2004; Belda Sanchis, 2001; Nowak, 2005) geben keine ausreichende Hinweise, dass die Konstellation der Blutfettwerte einen Einfluss auf die AMD hat. Dabei bleibt zu erwähnen, dass wir bei der Bestimmung der Blutfettwerte aus studientechnischen Gründen nicht die empfohlene 12 Std Nahrungskarenz einhalten

konnten. Auf Grund der hohen Probandenzahl sollten sich die nahrungsabhängigen und tageszeitlichen Schwankungen der Blutfettwerte allerdings ausgleichen.

Viel wahrscheinlicher allerdings ist, dass es beim Pathomechanismus der AMD weniger die Quantität der Blutfette sondern auf ihre „Qualität“ ankommt. Durch oxidativer Schädigung von Lipoproteinen können aktive Produkte, wie zum Beispiel Malondialdehyde oder 4-Hydroxynonenal, entstehen. (Handelman et al., 1988;Kopitz et al., 2004;Nowak et al., 2003) Diese schädigen verschiedene Zellfunktionen und verursachen unter anderem eine lysosomale Dysfunktion im RPE, was wiederum zu einem verminderten Abbau des toxischen Lipofuscin führt. (Fox et al., 1987;Kopitz et al., 2004;Sevanian and Ursini, 2000) Ein effektiver Schutzmechanismus gegen die, durch freie Radikale verursachte, Lipid Peroxidation bieten wiederum verschiedene Antioxidantien wie Lutein und Zeaxanthin. (Handelman et al., 1988;Krinsky, 2002)

8. Zusammenfassung:

Die Fragestellung dieser Studie war, welchen Einfluss Lutein und Zeaxanthin auf die altersabhängige Makulardegeneration haben. Die Ergebnisse zeigen, dass die beiden Carotinoide eine bedeutende Rolle in der multifaktoriellen Pathogenese der AMD spielen. Die antioxidativen Eigenschaften beider Carotinoide schützen unter anderem den Körper vor photooxidativen Schäden an der Retina (Davies and Morland, 2004;Landrum and Bone, 2001;Moeller et al., 2000) und vor peroxidativen Schäden an Lipidmembranen (Niki et al., 2005;Sevanian and Ursini, 2000).

Aus dieser Studie wird deutlich, dass AMD-Patienten nicht nur weniger carotinoidreiche Nahrung zu sich nehmen und niedrigere Serumspiegel haben, sondern auch bei einer hochdosierten Supplementierung nicht die Serumspiegelwerte der Kontroll-Gruppe erreichen.

Da zudem Beta-Carotin, das den gleichen Resorptionsweg wie Lutein und Zeaxanthin haben, ebenfalls im Serum der AMD-Patienten erniedrigt sind, sollte eine im Alter zunehmende Aufnahmestörung nicht außer Acht gelassen werden.

Die erhöhten Vitamin C Werte in der AMD Gruppe geben Hinweise auf eine erhöhte Belastung des antioxidativen Schutzmechanismus des Vitamin E. Das Vitamin E schützt nämlich, wie die Carotinoide auch, vor Lipidperoxidationen; muss aber anschließend durch Vitamin C regeneriert werden, um funktionsfähig zu bleiben. (Karlson et al., 1994;Winkler et al., 1999)

Die Makulapigmentdichte konnte zwar durch Supplementierung gesteigert werden, ist aber ohne Supplementierung bei AMD und Kontrollen gleich. Eine gleichhohe Makulapigmentdichte impliziert allerdings, dass in der Retina bei AMD-Patienten und Kontrollprobanden ein ausreichender Schutzmechanismus vor photooxidativen Schäden vorliegen muss. Dies kann somit nicht die pathologischen Veränderungen der AMD erklären. Deshalb ist es wahrscheinlich, dass die Carotinoide weniger durch ihren direkten Schutz vor photooxidativen Schäden an der Netzhaut in der Form eines Filters, sondern durch den Schutz vor Lipidperoxidation im Blutserum und in der Retina ihre Bedeutung in der Pathogenese der AMD erlangen. Die durch Lipidperoxidation entstehenden Produkte verursachen in den RPE-Zellen lysosomale Dysfunktionen und eine vermehrte Lipofuscinansammlung. (Kopitz et al., 2004) Das toxische Lipofuscin beschleunigt den RPE-Zelluntergang und verstärkt die Immunaktivierung. (Gandorfer et al., 2002;Holz et al., 1999;Tezel et al., 2004) Der Grund, wieso gerade das RPE und nicht anderes Gewebe so stark betroffen sind, könnte an der Tatsache liegen, dass das RPE postmitotisches Gewebe ist. Wegen der fehlenden Zellteilung ist postmitotisches Gewebe viel anfälliger für Zellschädigung. (Holz and Pauleikhoff, 1997)

Ein verminderter antioxidativer Schutz durch das Alter und ein relativer Mangel an den Carotinoiden Lutein und Zeaxanthin im Blutserum, sowie eine erhöhte oxidative Belastung, z.B. durch Rauchen sind entscheidende Elemente in der Pathogenese der AMD.

9. Literaturverzeichnis

- Alves-Rodrigues,A, A Shao, 2004, The science behind lutein: *Toxicology Letters*, v. 150, p. 57-83.
- Beatty,S, I J Murray, D B Henson, D Carden, H Koh, M E Boulton, 2001, Macular pigment and risk for age-related macular degeneration in subjects from a Northern European population: *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, v. 42, p. 439-446.
- Belda Sanchis,JI, A Quijada Gonzalez, G Munoz Ruiz, A Rodriguez-Galietero, F J Romero Gomez, M Diaz-Llopis, 2001, Are blood lipids a risk factor for age-related macular degeneration?: *Arch Soc Esp Oftalmol.*, v. 76, p. 13-17.
- Berendschot,TTJ, D van Norren, 2005, On the age dependency of the macular pigment optical density: *Exp. Eye Res.*, v. 81, p. 602-609.
- Berendschot,TTJ, J J Willemsse-Assink, M Bastiaanse, P T V de Jong, D van Norren, 2002, Macular pigment and melanin in age-related maculopathy in a general population: *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, v. 43, p. 1928-1932.
- Bernstein,PS, F Khachik, L S Carvalho, G J Muir, D-Y Zhao, N B Katz, 2001, Identification and Quantification of Carotenoids and their Metabolites in the Tissues of the Human Eye: *Exp. Eye Res.*, v. 72, p. 215-223.
- Bernstein,PS, D-Y Zhao, S W Wintch, I V Ermakov, R W McClane, W Gellermann, 2002, Resonance Raman measurement of macular carotenoids in normal subjects and in age-related macular degeneration patients: *Ophthalmology*, p. 1780-1787.
- Bhosale,P, A J Larson, J M Frederick, K Southwick, C D Thulin, P S Bernstein, 2004a, Identification and Characterization of a Pi Isoform of Glutathione S-Transferase (GSTP1) as a Zeaxanthin-binding Protein in the Macula of the Human Eye: *J. Biol. Chem.*, v. 279, p. 49447-49454.
- Bird,A, 1996, Age-related macular disease: *Br J Ophthalmol*, v. 80, p. 2-3.
- Bird,A, N M Bressler, I H Chisholm, G Coscas, M D Davies, P T V de Jong, C C W Klaver, B E K Klein, R Klein, P Mitchell, J P Sarks, S H Sarks, G Soubrane, H R Taylor, J R Vingerling, 1995, An International Classification and Grading System for Age-related Maculopathy and Age-related Macular Degeneration: *Surv Ophthalmol*, v. 39, p. 367-374.
- Bone,RA, J T Landrum, Z Dixon, Y Chen, C M LLerena, 2000, Lutein and zeaxanthin in the Eyes, Serum and Diet of Human Subjects: *Exp. Eye Res.*, v. 71, p. 239-245.
- Broekmans,WMR, T T J Berendschot, I A A Klöpping-Ketelaars, A J de Vries, R A Goldbohm, L B M Tijburg, A F M Kardinaal, G van Poppel, 2002, Macular pigment density in relation to serum and adipose tissue concentrations of lutein and serum concentrations of zeaxanthin: *Am J Clin Nutr*, v. 76, p. 595-603.
- Buettner,GR, 1993, The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol and ascorbate: *Arch Biochem Biophys.*, v. 300, p. 535-543.

Castenmiller,JJM, C E West, J P H Linssen, A G J Voragen, 1999, The Food Matrix of Spinach Is a Limiting Factor in Determining the Bioavailability of Beta-Carotene and to a Lesser Extent of Lutein in Humans: *J.Nutr.*, v. 129, p. 349-355.

Chromsystems,IaCG. Arbeitsvorschrift für die HPLC-Bestimmung von Glutathion im Vollblut. 3-10. 2003.

Ref Type: Patent

Ciulla,TA, J Curran-Celantano, D A Cooper, B R Hammond, R P Danis, K A Riccardi, T G Filloon, 2001, Macular pigment optical density in a midwestern sample: *Ophthalmology*, v. 108, p. 730-737.

Ciulla,TA, B R Hammond, 2004, Macular Pigment Density and Aging, Assessed in the Normal Elderly and Those With Cataracts and Age-related Macular Degeneration: *Am J Ophthalmol*, v. 138, p. 582-587.

Cypel,MC, G Palacio, P E Dantas, C L Lottenberg, R Jr Belfort, 2006, Ocular findings in patients older than 99 years: *Arq Bras Oftalmol*, v. 69, p. 665-669.

Davies,NP, A B Morland, 2004, Macular pigments: their characteristics and putative role: *Prog. Retin Eye Res.*, v. 23, p. 533-559.

Demming-Adams,B, W W Adams, 2000, Harvesting sunlight safely: *Nature*, v. 403, p. 371-374.

Despriet,DD, C C Klaver, J C Witteman, A A Bergen, I Kardys, M P de Maat, S S Boekhoorn, J R Vingerling, A Hofman, B A Oostra, A G Uitterlinden, T Stijnen, C M van Duijn, P T V de Jong, 2006, Complement factor H polymorphism, complement activators, and risk of age-related macular degeneration: *JAMA*, v. 296, p. 301-309.

Donosco,LA, D Kim, A Frost, A Callahan, G Hageman, 2006, The Role of Inflammation in the Pathogenesis of Age-related Macular Degeneration: *Surv Ophthalmol*, v. 51, p. 137-151.

European Eye Study, 2006, Prevalence of age-related maculopathy in older Europeans: The European Eye Study: *Arch Ophthalmol*, v. 124, p. 529-535.

Fox,PL, G M Chisolm, P E DiCorleto, 1987, Lipoprotein-mediated inhibition of endothelial cell production of platelet-derived growth factor-like protein depends on free radical lipid peroxidation. *J Biol Chem* 262, 6046-6054.

Ref Type: Conference Proceeding

Gale,CR, N F Hall, D I W Phillips, C N Martyn, 2003, Lutein and Zeaxanthin Status and Risk of Age-related Macular Degeneration: *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, v. 44, p. 2461-2465.

Gandorfer,A, M Ulbig, A Kampik, 2002, Altersabhängige Makuladegeneration, Erkrankungen der Retina, Aktuelle Aspekte der Diagnostik und Therapie: Bremen, International Medical Publishers, p. 48-97.

Gehrs,KM, D H Anderson, L V Johnson, G S Hageman, 2006, Age-related macular degeneration-emerging pathogenetic and therapeutic concepts: *Ann Med.*, v. 38, p. 450-471.

Grehn,F, 2003, *Augenheilkunde*, Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag, p. 269-274.

- Hammond, BR, E J Johnson, R M Russell, N I Krinsky, K-J Yeum, R B Edwards, D M Snodderly, 1997, Dietary Modification of Human Macular Pigment Density: Invest Ophthalmol Vis Sci., v. 38, p. 1795-1801.
- Handelman, GJ, E A Dratz, C C Reay, F J G van Kuijk, 1988, Carotenoids in the Human Macula and Whole Retina: Invest Ophthalmol Vis Sci., v. 29, p. 850-855.
- Holden, JM, A L Eldridge, G R Beecher, I M Buzzard, S Bhagwat, C S Davies, L W Douglass, S Gebhardt, D Haytowitz, S Schakel, 1999, Carotenoid Content of U.S. Foods: An Update of the Database: Journal of Food Composition and Analysis, v. 12, p. 169-196.
- Holz, FG, D Pauleikhoff, 1997, Altersabhängige Makuladegeneration, Heidelberg, p. 8-35.
- Holz, FG, F Schütt, J Kopitz, G E Eldred, F E Kruse, H E Völker, M Cantz, 1999, Inhibition of lysosomal degradative functions in RPE cells by a retinoid component of lipofuscin: Invest Ophthalmol Vis Sci., v. 42, p. 1051-1056.
- Johnson, EJ, 2005, Obesity, lutein metabolism, and age-related macular degeneration: a web of connections: Nutr Rev, v. 63, p. 9-15.
- Johnson, EJ, B R Hammond, K-J Yeum, J Qin, X D Wang, C Castaneda, D M Snodderly, R M Russell, 2000, Relation among serum and tissue concentrations of lutein and zeaxanthin and macular pigment density: Am J Clin Nutr, v. 71, p. 1555-1562.
- Kanis, MJ, T T J Berendschot, D van Norren, 2007, Influence of macular pigment and melanin on incident early AMD in a white population: Graefes Arch Clin Exp Ophtalmol., v. 245, p. 767-773.
- Kanski, 2004, Klinische Ophthalmologie, München, Urban+Fischer.
- Karlson, P, D Doeneck, J Koolman. Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. 14, 405-416. 1994. Stuttgart.
Ref Type: Serial (Book, Monograph)
- Khan, JC, H Shalid, D A Thurlby, M Bradley, D G Clayton, A T Moore, A C Bird, J R Yates, 2006, Age-related macular degeneration and sun exposure, iris colour and skin sensitivity to sunlight: Br J Ophthalmol, v. 90, p. 29-32.
- Kopitz, J, F G Holz, E Kaemmerer, D Schutz, 2004, Lipids and lipid peroxidation products in the pathogenesis of age-related macular degeneration: Biochemie, v. 86, p. 825-831.
- Krinsky, NI, 2002, Possible Biologic Mechanisms for a Protective Role of Xanthophylls: J. Nutr., v. 132, p. 540S-542S.
- Landrum, JT, R A Bone, 2001, Lutein, Zeaxanthin, and the Macular Pigment: Arch. Biochem. Biophys., v. 385, p. 28-40.
- Landrum, JT, R A Bone, H Joa, M D Kilburn, L L Moore, K E Sprague, 1997, A One Year Study of the Macular Pigment: The Effect of 140 Days of a Lutein Supplement: Exp. Eye Res., v. 65, p. 57-62.
- Lang, GK. Augenheilkunde. 2, 344-345. 2000. Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
Ref Type: Serial (Book, Monograph)

Li,XP, O Björkman, C Shih, A R Grossman, M Rosenquist, S Jansson, K K Niyogi, 2000, A pigment-binding protein essential for regulation of photosynthetic light harvesting: *Nature*, v. 403, p. 391-395.

Linhong Jia, Zhongbo Liu, Lijuan Sun, S S Miller, B N Ames, C W Cotman, Jiankang Liu, 2007, Acrolein, a Toxicant in Cigarette Smoke, Causes Oxidative Damage and Mitochondrial Dysfunction in RPE Cells: Protection by (R)-alpha-Lipoic Acid: *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, v. 48, p. 339-348.

Mares-Perlman,JA, W E Brady, B E K Klein, P Bowen, M Stacewicz-Sapuntzakis, M Palta, 1995, Serum antioxidants and age-related macular degeneration in a population-based case-control study: *Arch Ophthalmol*, v. 113, p. 1518-1523.

McDonald,HR, H Schatz, R N Johnson, D Madeira, 2005, Acquired Macular Disease, in William Tasman (ed), *Clinical Ophthalmology*: Philadelphia, USA, p. 1-10.

Metelitsina,TI, J E Grunwald, J C DuPont, G S Ying. Effect of systemic hypertension on foveolar choroidal blood flow in age related macular degeneration. *Br J Ophthalmol* 90[3], 342-346. 2006.

Ref Type: Abstract

Mitchell,P, W Smith, J J Wang, 1998, Iris color, skin sun sensitivity, and age-related maculopathy. *The Blue Mountains Eye Study: Ophthalmology*, v. 105, p. 1359-1363.

Mitchell,P, W Smith, L L Wang, 2003, Five-year incidence of age-related maculopathy in relation to iris, skin or hair colour and skin sun sensitivity: the Blue Mountains Eye Study: *Clin Experiment Ophthalmol*, v. 31, p. 317-321.

Moeller,SM, P F Jacques, J B Blumberg, 2000, The potential role of dietary xanthophylls in cataract and age-related macular degeneration: *J Am Coll Nutr*, p. 522S-527S.

Niki,E, Y Yoshida, Y Saito, N Noguchi, 2005, Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects: *Biochem Biophys Res Commun*, v. Epub ahead of print.

Nowak,M, E Swietochowska, B Marek, B Szapska, T Wielkoszynski, B Kos-Kudla, J Karpe, D Kajdaniuk, L Sieminska, J Glogowska-Szelag, K Nowak, 2005, Changes in lipid metabolism in women with age-related macular degeneration: *Clin Exp Med*, v. 4, p. 183-187.

Nowak,M, E Swietochowska, T Wielkoszynski, B Marek, J Karpe, J Glogowska-Szelag, B Kos-Kudla, Z Ostrowska, 2003, Changes in blood antioxidants and several lipid peroxidation products in women with age-related macular degeneration: *Eur J Ophtalmol.*, v. 13, p. 281-286.

Rock,CL, M D Thornquist, M L Neuhouser, A R Kristal, D Neumark-Sztainer, D A Cooper, R E Patterson, L J Cheskin, 2002, Diet and lifestyle correlates of lutein in the blood and diet: *J Nutr.*, v. 132, p. 525S-530S.

Rudolf,M, B Ivandic, J Winkler, U Schmidt-Erfurth, 2004, Accumulation of lipid particles in Bruch's membrane of LDL receptor knockout mice as a model of age-related macular degeneration: *Ophthalmologie*, v. 101, p. 715-719.

Samiec,PS, C Drews-Botsch, E W Flagg, J C Kurtz, P Jr Sternberg, R L Reed, D P Jones, 1998, Glutathione in human plasma: decline in association with aging, age-related macular degeneration and diabetes: *Free Radic Biol Med.*, v. 24, p. 699-704.

Schaumberg,DA, W G Christen, P Kozlowski, D T Miller, P M Ridker, R Y Zee, 2006, A prospective assesment of the Y402H variant in complement factor H, genetic variants in C-reactive protein and risk of age-related macular degeneration: *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, v. 47, p. 2336-2340.

Schmidt-Erfurth,U, C Prunte, 2007, Management of neovascular age-related macular degeneration: *Prog. Retin Eye Res.*, v. 26, p. 437-451.

Schütt,F, S Davies, J Kopitz, F G Holz, M E Boulton, 2000, Photodamage to Human RPE cells by A2-E, a retinoid component of lipofuscin: *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, v. 41, p. 2303-2308.

Schütt,F, F G Holz, 2001, *Age-Related Macular Degeneration*, Berlin, Heidelberg, p. 3-9.

Seddon,JM, U A Ajani, R D Sperduto, R Hiller, N Blair, T C F Burton, E S Gragoudas, J Haller, D T Miller, 1994, Dietary carotenoids, vitamin A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Study Group: *JAMA*, v. 272, p. 1413-1420.

Seddon,JM, J Cote, W F Page, S H Aggen, M C Neale. The US twin study of age-related macular degeneration: relative role of genetic and environmental influences. *Arch Ophthalmol* 123[3], 312-327. 2005.

Ref Type: Abstract

Seddon,JM, J Cote, B Rosner, 2003, Progression of age-related macular degeneration: association with body mass index, waist circumference, and waist-hip ratio: *Arch Ophthalmol*, v. 121, p. 785-792.

Sevanian,A, F Ursini, 2000, Lipid peroxidation in low-density lipoproteins: similarities and differences: *Free Radic Biol Med.*, v. 29, p. 306-311.

Shafaa,MW, H A Diehl, C Socaciu. The solubilisation pattern of lutein, zeaxanthin, canthaxanthin und beta-carotene differ characteristically in liposomes, liver micromes and retinal epithelial cells. *Biophys Chem* . 2007.

Ref Type: In Press

Sharma,MK, G R Buettner, 1993, Interaction of vitamin C and vitamin E during free radical stress in plasma: an ESR study: *Free Radic Biol Med.*, v. 14, p. 649-653.

Smith,W, P Mitchell, C Rochester, 1997. Serum beta carotene, alpha tocopherol, and age-related maculopathy: the Blue Mountains Eye Study. *Am J Ophthalmol* 124, 838-840.

Snodderly,DM, J A Mares, B R Wooten, L Oxtan, M Gruber, T Ficek, CAREDS Macular Pigment Study Group, 2004, Macular Pigment Measurement by Heterochromatic Flicker Photometry in Older Subjects: The Carotenoids and Age-Related Eye Disease Study: *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, v. 45, p. 531-538.

Sommerburg,OG, W G Siems, J S Hurst, J W Lewis, D S Kliger, F J van Kuijk, 1999, Lutein and zeaxanthin are associated with photoreceptors in the human retina: *Curr Eye Res*, v. 19, p. 491-495.

Sujak,A, J Gabrieska, W Grundzinski, R Borc, P Mazurek, W Gruszecki, 1999, Lutein and Zeaxanthin as Protectors of Lipid Membranes against Oxidative Damage: The Structural Aspects: Arch. Biochem. Biophys., v. 371, p. 301-307.

Tezel,TH, N S Bora, H J Kaplan, 2004, Pathogenesis of age-related macular degeneration: Trends in Molecular Medicine, v. 10, p. 417-420.

The Age-Related Eye Disease Study Group, 1999, The Age-Related Eye Disease Study: Design Implications AREDS Report No. 1: Control Clin Trials, p. 573-600.

Tyssandier,V, N Cardinault, C Caris-Veyrat, M J Amiot, P Grolier, C Bouteloup, V Azais-Braesco, P Borel, 2002, Vegetable-borne lutein, lycopene, and beta-carotene compete for incorporation into chylomicrons, with no adverse effect on the medium-term plasma status in humans: Am J Clin Nutr, v. 75, p. 526-534.

Tyssandier,V, E Reboul, J F Dumas, C Boutleloup-Demange, M Armand, J Marcand, M Sallas, P Borel, 2003, Processing of vegetable-borne carotenoids in the human stomach and duodenum: Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, v. 284, p. G913-G923.

van den Berg,H, T van Vliet, 1998, Effects of simultaneous, single oral doses of beta-carotene with lutein or lycopene on the beta-carotene and retinyl ester responses in the triacylglycerol-rich lipoprotein fraction of men: Am J Clin Nutr, v. 68, p. 82-89.

van het Hof,KH, C E West, J A Weststrate, J G A J Hautvast, 2000, Dietary Factors That Affect the Bioavailability of Carotenoids: J. Nutr., v. 130, p. 503-506.

van Leeuwen,R, C C W Klaver, J R Vingerling, A Hofman, C M van Duijn, B H Stricker, P T V de Jong, 2004, Cholesterol and age-related macular degeneration: is there a link?: Am J Ophthalmol, v. 137, p. 750-752.

Winkler,BS, M E Boulton, J D Gottsch, P Sternberg, 1999, Oxidative damage and age-related macular degeneration: Molecular Vision, v. 5, p. 32-49.

Wooten,BR, B R Hammond, R I Land, D M Snodderly, 1999, A Practical Method for Measuring Macular Pigment Optical Density: Invest Ophthalmol Vis Sci., v. 40, p. 2481-2489.

Yemelyanov,AY, N B Katz, P S Bernstein, 2001, Ligand-binding Characterization of Xanthophyll Carotenoids to Solubilized Membrane Proteins Derived from Human Retina: Exp. Eye Res., v. 72, p. 381-392.

Yeum,K-J, S L Booth, J A Sadowski, C Liu, G Tang, N I Krinsky, R M Russell, 1996, Human plasma carotenoid response to the ingestion of controlled diets high in fruits and vegetables: Am J Clin Nutr, v. 64, p. 594-602.

Zhou,J, X Gao, B Cai, JR Sparrow, 2006, Indirect antioxidant protection against photooxidative processes initiated in retinal pigment epithelial cells by a lipofuscin pigment: Rejuvenation Res., v. 9, p. 256-263.

C. Anhang

Fragebogen für die Ernährungsanamnese

Wird auf gesunde Ernährung geachtet?

ja	nein
----	------

Wieviele Mahlzeiten werden am Tag eingenommen?

.....

Bitte die durchschnittlichen Werte während des letzten Jahres angeben.

nie	weniger als 1x im Monat	1-3 x im Monat	1 x pro Woche	2-4 x pro Woche	5-6 x pro Woche	1x pro Tag	mehrmals täglich
-----	----------------------------	----------------------	---------------------	--------------------	-----------------------	------------------	---------------------

Wo wird gegessen?

zu Hause							
Heim							
Kantine							
Restaurant							

Was wird gegessen?

(bitte zutreffendes ankreuzen)

selbstzubereitetes Essen							
Fertiggerichte (z.B. Essen auf Rädern)							
Fast Food							
Dosen / Eingemachtes							
Tiefkühlkost							
frisches Obst (roh)							
frisches Gemüse (roh)							
frisches Gemüse (gekocht)							

Gemüse:

Grünkohl (1/2 Tasse)							
Kohlrabi (1/2 Tasse)							
Kohl (1/2 Tasse)							
Spinat (1/2 Tasse)							
Kopfsalat (1/2 Tasse)							
Broccoli (1/2 Tasse)							
Mais (1/2 Tasse)							
grüne Erbsen (1/2 Tasse)							
Rosenkohl (1/2 Tasse)							
grüne Bohnen (1/2 Tasse)							

Obst:

Khaki / Sharonfrucht (1 Frucht)								
Multivitaminsaft								

Ei (1 ganzes Ei)								
------------------	--	--	--	--	--	--	--	--

Werden Nahrungsergänzungsmittel speziell für die Augen eingenommen?

ja	nein
----	------

Wenn ja, welche?

.....

Haben Sie jemals regelmäßig Multivitaminpräparate eingenommen?

nie

in der Vergangenheit (Jahre)

0 - 1 J.	2 - 4 J.	5 - 9 J.	10 od. > J.

Ich nehme zur Zeit Multivitaminpräparate ein.

wieoft pro Woche?

2x od. weniger	3 - 5 x	6 - 9 x	10 od. mehr

seit wievielen Jahren?

0 - 1 J.	2 - 4 J.	5 - 9 J.	10 od. > J.

Haben Sie jemals folgende Vitamine od. Mineralstoffe (ausgenommen Multivitaminpräparate) eingenommen?

Vitamin A

nie

in der Vergangenheit

zur Zeit

Dosis / Tag

für wie lange?

			10 od. > J.
0 - 1 J.	2 - 4 J.	5 - 9 J.	

Beta-Carotin	<input type="checkbox"/> nie	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="checkbox"/> in der Vergangenheit						
	<input type="checkbox"/> zur Zeit						
Vitamin B6	<input type="checkbox"/> nie	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="checkbox"/> in der Vergangenheit						
	<input type="checkbox"/> zur Zeit						
Vitamin C	<input type="checkbox"/> nie	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="checkbox"/> in der Vergangenheit						
	<input type="checkbox"/> zur Zeit						
Vitamin E	<input type="checkbox"/> nie	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="checkbox"/> in der Vergangenheit						
	<input type="checkbox"/> zur Zeit						
Selen	<input type="checkbox"/> nie	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="checkbox"/> in der Vergangenheit						
	<input type="checkbox"/> zur Zeit						
Eisen	<input type="checkbox"/> nie	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="checkbox"/> in der Vergangenheit						
	<input type="checkbox"/> zur Zeit						
Zink	<input type="checkbox"/> nie	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="checkbox"/> in der Vergangenheit						
	<input type="checkbox"/> zur Zeit						
Calcium	<input type="checkbox"/> nie	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="checkbox"/> in der Vergangenheit						
	<input type="checkbox"/> zur Zeit						
Fischöl (Omega 3 Fettsre.)	<input type="checkbox"/> nie	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="checkbox"/> in der Vergangenheit						
	<input type="checkbox"/> zur Zeit						
Magnesium	<input type="checkbox"/> nie	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="checkbox"/> in der Vergangenheit						
	<input type="checkbox"/> zur Zeit						

Nehmen Sie andere Nahrungsergänzungsmittel regelmäßig (mindestens einmal in der Woche)?

nein

ja welche?

.....

.....

Lebenslauf

Name: Johannes-Samuel Leonard Büttner

Geboren: 14. Juni 1979 in Zürich

Eltern: Prof. Dr. med. Ulrich Büttner
Prof. Dr. Jean Büttner-Ennever

Staatsangehörigkeit: deutsch

Familienstand: ledig

Schulausbildung: 1990 – 1996 Carl-Spitzweg-Gymnasium, Germering, Bayern
1996 - 1997 Chiswick Community College, London
1997 –1999 Christoph-Probst-Gymnasium, Gilching, Bayern

Zivildienst: 1999 –2000 Individuelle Schwerstbehindertenbetreuung, Sozialstation Peissenberg

Studium: 2000 -2007 Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München

Promotion: 2004 -2008 an der Universitäts-Augenklinik München (LMU) unter der Leitung von Prof. Dr. med. A. Kampik

Beruf: seit 2007 Assistenzarzt an dem Klinikum München-Harlaching unter Prof. Dr. med. R. Haberl, Abteilung für Neurologie